

**VITAMIN A-STATUS
UND VITAMIN E-STATUS
DER KEGELROBBE
(HALICHOERUS GRYPUS) -
ALLGEMEIN UND UNTER DEM ASPEKT
DER LAKTATION**

Martina Luppertz

Disbui. München

1988



Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

**VITAMIN A-STATUS UND VITAMIN E-STATUS DER KEGELROBBE
(HALICHOERUS GRYPUS) -
ALLGEMEIN UND UNTER DEM ASPEKT DER LAKTATION**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Martina Luppertz
aus
Memmingen

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse
Referent: Prof. Dr. H. Zucker
Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. R. Stolla

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

INHALTSVERZEICHNIS

1	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	1
2	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	2
3	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	3
4	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	4
5	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	5
6	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	6
7	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	7
8	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	8
9	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	9
10	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	10
11	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	11
12	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	12
13	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	13
14	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	14
15	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	15
16	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	16
17	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	17
18	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	18
19	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	19
20	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	20
21	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	21
22	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	22
23	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	23
24	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	24
25	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	25
26	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	26
27	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	27
28	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	28
29	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	29
30	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	30
31	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	31
32	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	32
33	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	33
34	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	34
35	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	35
36	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	36
37	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	37
38	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	38
39	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	39
40	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	40
41	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	41
42	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	42
43	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	43
44	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	44
45	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	45
46	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	46
47	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	47
48	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	48
49	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	49
50	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	50
51	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	51
52	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	52
53	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	53
54	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	54
55	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	55
56	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	56
57	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	57
58	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	58
59	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	59
60	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	60
61	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	61
62	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	62
63	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	63
64	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	64
65	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	65
66	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	66
67	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	67
68	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	68
69	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	69
70	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	70
71	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	71
72	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	72
73	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	73
74	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	74
75	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	75
76	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	76
77	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	77
78	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	78
79	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	79
80	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	80
81	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	81
82	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	82
83	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	83
84	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	84
85	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	85
86	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	86
87	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	87
88	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	88
89	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	89
90	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	90
91	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	91
92	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	92
93	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	93
94	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	94
95	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	95
96	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	96
97	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	97
98	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	98
99	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	99
100	STIFTUNG DER UNIVERSITÄT	100

Für Christoph in Dankbarkeit

INHALTSÜBERSICHT

1	EINLEITUNG und PROBLEMSTELLUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	Vitamin A	3
2.1.1	Stoffwechsel	3
2.1.2	Funktionen	6
2.1.3	Transfer von Vitamin A auf Feten und Säuglinge	7
2.1.4	Vitamin A bei Meeressäugern und terrestrischen Säugetieren	9
2.2	Vitamin E	11
2.2.1	Stoffwechsel	11
2.2.2	Funktionen	13
2.2.3	Transfer von Vitamin E auf Feten und Säuglinge	14
2.2.4	Vitamin E bei Meeressäugern und terrestrischen Säugetieren	15
2.3	Interaktionen zwischen Vitamin A und Vitamin E	17
2.4	Kegelrobben	18
2.4.1	Beschreibung, Vorkommen	18
2.4.2	Fortpflanzung, Laktation, Jungtier- entwicklung	19

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3	MATERIAL und METHODEN	22
3.1	Tiere und Probenmaterial	22
3.2	Probennahme und Probenkonservierung	24

3.3	Bestimmung von Vitamin A und Vitamin E in Leber, Niere, Fettgewebe, Muskulatur, Plazenta, Hoden, Serum, Milch und Amnion- flüssigkeit	25
3.3.1	Extraktions- und Verseifungsverfahren	25
3.3.2	HPLC-Analysen	28
3.3.3	Bestimmung des Fettgehaltes in subcutanem sowie mesenterialem Fettgewebe und Leber	30
3.3.4	Standards und Chemikalien	31
3.4	Statistik	31
4	ERGEBNISSE	32
4.1	Methodik	32
4.1.1	Extraktions- und Verseifungsverfahren	32
4.1.2	HPLC-Analysen	33
4.2	Morphometrische Daten der untersuchten Kegelrobben	37
4.3	Vitamin A und Vitamin E im Serum	39
4.4	Vitamin A und Vitamin E in der Leber	41
4.5	Vitamin A und Vitamin E im subcutanen Fettgewebe (Blubber)	46
4.6	Vitamin A und Vitamin E in der Niere	48
4.7	Vitamin A und Vitamin E in der Milch	50
4.8	Vitamin A und Vitamin E in Herzmusku- latur, Skelettmuskulatur, Hoden, Plazenta, mesenterialem Fettgewebe und Amnion- flüssigkeit	51

5	DISKUSSION	55
5.1	Vitamin A und Vitamin E bei erwachsenen, nicht laktierenden Kegelrobben	55
5.2	Vitamin A und Vitamin E bei laktierenden Kegelrobben	59
5.3	Vitamin A und Vitamin E bei Feten, Säug- lingen und entwöhnten Jungtieren	66
5.5	Schlußfolgerung	71
	ZUSAMMENFASSUNG	74
	SUMMARY	76
	LITERATURVERZEICHNIS	78

1 EINLEITUNG und PROBLEMSTELLUNG

Die fettlöslichen Vitamine A und E erfüllen wichtige Funktionen im menschlichen und tierischen Organismus. Ein Mangel an Vitamin A führt zu herabgesetzter Fruchtbarkeit und krankhaften Veränderungen in verschiedenen epithelialen Geweben, während bei Vitamin E-Mangel pathologische Gewebeschäden durch oxidative Prozesse an Membranstrukturen auftreten können (MACHLIN, 1984; WOLF, 1984). Aber nicht nur Hypovitaminosen können Krankheitserscheinungen hervorrufen. Besonders Vitamin A hat auch toxische Eigenschaften, die bei einer Überdosierung zur Geltung kommen. Schon lange ist bekannt, daß nach dem Verzehr von Lebern bestimmter Meeres-säuger und Eisbären beim Menschen Vergiftungserscheinungen auftreten können, die auf einen extrem hohen Vitamin A-Gehalt in diesen Organen zurückzuführen sind (RODAHL und MOORE, 1943). Bei im Zoo gehaltenen Meeressäugern hingegen werden teilweise 10- bis 100-mal niedrigere Vitamin A-Konzentrationen in der Leber als bei wildlebenden Tieren derselben Spezies gefunden (RÜEDI et al., 1979; WILLIAMS und LEWIS, 1982). Bei anderen in Gefangenschaft gehaltenen Meeressäugern konnten nach dem Tod pathologische Veränderungen festgestellt werden, die Ähnlichkeit mit Vitamin E-Mangelerkrankungen bei terrestrischen Säugetieren aufweisen (GERACI, 1981). Die Kenntnis physiologischer Werte im Vitamin A- und Vitamin E-Stoffwechsel der Meeressäuger ist daher eine notwendige Grundlage für die Vorbeugung und Erkennung von Vitaminmangel-Erkrankungen bei Zootieren dieser Spezies. Bisher sind nur wenige Untersuchungen bekannt, die sich mit der Verteilung und Konzentration von Vitamin A und Vitamin E im Organismus der Meeressäuger befaßt haben. Eine größere Anzahl von Tieren derselben Spezies wurde nur in Ausnahmefällen untersucht (ENGELHARDT und GERACI, 1978; SCHWEIGERT et al., 1987b).

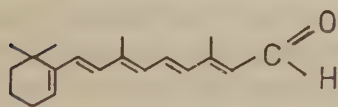
Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit, durch umfassende analytische Untersuchungen an einem größeren Kollektiv wildlebender Kegelrobben (*Halichoerus grypus*) einen Einblick in den physiologischen Vitamin A- und Vitamin E-Status dieser Spezies zu gewinnen. Dabei sollten Tiere verschiedenen Geschlechtes und Entwicklungsalters sowie in unterschiedlichen physiologischen Stoffwechsellagen (Laktation, Trächtigkeit) untersucht werden. Über den Vitamin A-Stoffwechsel laktierender Meeressäuger sind bislang nur Einzelbefunde (RODAHL und DAVIES, 1949), über den Vitamin E-Stoffwechsel hingegen überhaupt keine Untersuchungen bekannt. Die Gegenüberstellung laktierender Weibchen und ihrer Säuglinge erschien außerdem interessant, weil Kegelrobben während der Laktation keinerlei Nahrung aufnehmen (BONNER, 1981; FEDAK und ANDERSON, 1982). Damit standen natürliche Modelle für die Verteilung von Vitamin A und Vitamin E im Organismus dieser Tiere, mit und ohne exogene Zufuhr dieser Substanzen über die Nahrung, zur Verfügung. Zusätzlich sollten analytische Methoden zur Darstellung verschiedener Vitamin A-Metabolite gefunden werden, die einen detaillierteren Einblick in den Vitamin A-Stoffwechsel ermöglichen. Solche analytischen Untersuchungen sind bei Meeressäugern bislang nicht bekannt.

2.1 Vitamin A

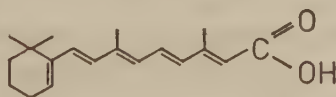
2.1.1 Stoffwechsel

Im tierischen und menschlichen Organismus kommt Vitamin A in vier Formen vor (Abb. 1). Der Alkohol all-trans-Retinol stellt die Transportform dar. Speicherformen von Retinol sind Ester langkettiger Fettsäuren, vorwiegend der Palmitinsäure. Retinal ist in der Retina des Auges als Bestandteil des Sehpigments Rhodopsin enthalten und am Sehprozeß beteiligt (WALD, 1968; WOLF, 1984). Retinsäure ist ein weiterer Stoffwechselmetabolit, der Retinol zwar in seiner Wirkung auf Wachstum und Epitheldifferenzierung ersetzen kann, nicht aber beim Sehvorgang und in der Aufrechterhaltung der Fruchtbarkeit (PAWSON, 1982; WOLF, 1984).

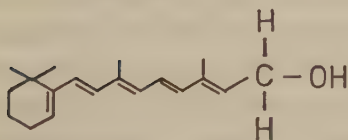
Abb. 1 : Wichtige Vitamin A-Metabolite im Säugetierstoffwechsel



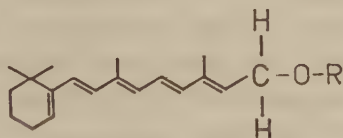
RETINAL



RETINSÄURE



RETINOL



RETINYLESTER

Die wichtigsten natürlichen Quellen für Vitamin A in der Nahrung sind β -Carotin als Vorstufe von Vitamin A in Pflanzen, sowie langkettige Retinylester in tierischen Geweben wie Leber und Milch. β -Carotin wird in der Darmmukosa enzymatisch in Retinal übergeführt, das durch ein weiteres Enzym zu Retinol reduziert wird (DE LUCA, 1978). Retinylester aus tierischen Nahrungsbestandteilen werden im Darmlumen hydrolysiert und das dabei entstandene Retinol in die Mukosazelle absorbiert. Aus β -Carotin oder Retinylestern stammendes Retinol wird in der Mukosazelle mit langkettigen, vorwiegend gesättigten Fettsäuren durch eine Acyl-CoA-Retinol-Acyltransferase erneut verestert. In Bindung an Chylomikronen gelangen die Retinylester auf dem Lymph- und Blutweg in die Leber (GOODMAN, 1984; BLOMHOFF et al., 1985). Nach Aufnahme in die Leber werden die Retinylester wieder enzymatisch hydrolysiert und neu verestert. Sie werden sowohl in Leberparenchymzellen als auch in nicht-parenchymalen Fettspeicherzellen, den perisinusoidalen Sternzellen, gespeichert (BLOMHOFF et al.; 1985; HENDRIKS et al., 1985). Dabei wird Retinol nach Aufnahme in die Leber wahrscheinlich zuerst in die Parenchymzellen eingelagert und von dort in die Fettspeicherzellen weitertransportiert (BLOMHOFF et al., 1985). Beim Menschen und allen untersuchten Säugetieren befinden sich in der Leber über 90 % der gesamten Vitamin A-Reserven des Körpers (GOODMAN und BLANER, 1984; WOLF, 1984). Den größten Anteil davon stellen Retinylester langkettiger, zu 85 bis 90 % gesättigter Fettsäuren, vorwiegend der Palmitinsäure (RASMUSSEN et al., 1985; BATRES und OLSON, 1987).

Aus dem Leberspeicher wird bei Bedarf Retinol mobilisiert und an das Blut abgegeben. Bei diesem Vorgang kommt den Leberparenchymzellen eine wichtige Bedeutung zu, da sie das spezifische Transportprotein für Retinol, das "retinol-binding" Protein (RBP) synthetisieren und sezernieren

(GOODMAN, 1984; HENDRIKS et al., 1985). Da die RBP-Synthese in Rattenhepatom-Zellkulturen durch Glukokortikoide stimuliert werden kann, ist anzunehmen, daß die Freisetzung von Vitamin A aus der Leber auch endokriner Kontrolle unterliegt (GOODMAN, 1984). Aus der Leber mobilisiertes Retinol wird im Blut in einem Komplex mit dem RBP transportiert. Dieses zirkuliert in Bindung an ein weiteres Protein mit hohem Molekulargewicht, Transthyretin (TTR), das auch als Präalbumin bekannt ist. Diese Bindung an TTR schützt das RBP vor glomerulärer Filtration und renaler Elimination (SMITH und GOODMAN, 1979; BLOMHOFF et al., 1985). Die Plasmaspiegel von Vitamin A bleiben trotz starker Schwankungen in der Vitamin A-Zufuhr über die Nahrung und im Leberspeicher bei einem gegebenen Individuum bemerkenswert konstant. Für diese strenge Homöostase spielt die RBP-Synthese in der Leber eine wichtige regulierende Rolle (SMITH und GOODMAN, 1979; WOLF, 1984). Ein kleiner Teil des Vitamin A im Blut wird auch als Retinylester in Bindung an Lipoproteine transportiert. Diese Fraktion ist im Serum nach der Nahrungsaufnahme vorübergehend erhöht (KÜBLER und LORENZ, 1963; WOLF, 1984). Bei Menschen und Labortieren werden außerdem im Zusammenhang mit Hypervitaminosis A erhöhte Anteile der lipoproteingebundenen Retinylester im Serum gefunden, die nicht mit RBP assoziiert sind und dadurch nicht dieser strengen Regulation unterliegen (SMITH und GOODMAN, 1976).

Auf dem Blutweg gelangt Vitamin A in die Zielgewebe. Dort wird der Retinol-RBP-TTR-Komplex von spezifischen Zelloberflächenrezeptoren gebunden. Nach dem Transport ins Zellinnere wird Retinol an zelluläres RBP angelagert, das in verschiedenen tierischen und menschlichen Geweben nachgewiesen werden konnte (CHYTIL und ONG, 1979; GOODMAN, 1984). In die Niere gelangt im Gegensatz zur Leber vor allem freies Retinol (WOLF, 1984). Von den im Blut zirkulierenden, an Chylomikronen gebundenen Retinylestern nimmt die Niere nur

vernachlässigbar kleine Mengen auf, weshalb das Auftreten von Retinol in der Niere wahrscheinlich keine echte Speicherung ist (WOLF, 1984). Größtenteils stammt das Retinol der Niere aus kleinen Anteilen des Retinol-RBP-Komplexes, der nicht an Transthyretin gebunden ist und deshalb glomerulär filtriert wird. Nach glomerulärer Filtration wird RBP in der Niere katabolisiert, wobei Retinol freigesetzt wird (WOLF, 1984). Im Vergleich zur Leber werden in der Niere bei den meisten untersuchten Spezies nur sehr geringe Vitamin A-Konzentrationen gespeichert. Eine Ausnahme bildet die Katze, bei der die Vitamin A-Werte der Niere im Vergleich zu denen anderer Spezies um ein Vielfaches höher liegen (MOORE et al., 1963).

2.1.2 Funktionen

Vitamin A hat vielfältige Funktionen im tierischen und menschlichen Organismus, wobei der molekulare Wirkungsmechanismus von Vitamin A größtenteils noch ungeklärt ist. Nur beim Sehprozeß konnte WALD (1968) die dabei stattfindenden molekularen Vorgänge, an denen Vitamin A wesentlich beteiligt ist, im Detail klären. Vitamin A ist außerdem notwendig für normales Wachstum, Epitheldifferenzierung und Fortpflanzung. Mangel an Vitamin A führt zu Wachstumsverminderung, Knochendeformierung, Fruchtbarkeitsstörungen und Augenveränderungen, die bis zur völligen Blindheit reichen können (WEBER, 1983). Ähnlich wie bei den Steroidhormonen wird angenommen, daß Vitamin A in Epithelzellen die Genexpression beeinflusst und dadurch die Synthese spezifischer Proteine kontrolliert (WOLF, 1984).

2.1.3 Transfer von Vitamin A auf Feten und Säuglinge

Vitamin A wird vom Muttertier auf die Nachkommen sowohl durch diaplazentaren Transfer als auch durch Sekretion in Kolostrum und Milch übertragen. Dabei scheint die Übertragung durch die Plazenta relativ begrenzt zu sein, da Feten und Neugeborene aller Spezies wesentlich geringere Vitamin A-Reserven in der Leber und niedrigere Serumspiegel als ihre Mütter aufweisen (ELMOTY und EL-MALLA, 1967; TOMLINSON et al., 1974; MONTREEWASUWAT und OLSON, 1979; MITCHELL et al., 1975). Auch hohe Vitamin A-Gaben an trächtige Muttertiere können den diaplazentaren Vitamin A-Transfer nicht wesentlich vergrößern. Bei Untersuchungen neugeborener Ratten variierten die Vitamin A-Konzentrationen in der Leber nur 1,4-fach, während bei ihren Müttern der Leberspiegel 100-fache, die Aufnahme von Vitamin A über die Diät 10-fache Schwankung aufwies (BATES, 1983).

Wahrscheinlich stammt fetales Vitamin A aus dem im Blut zirkulierenden Retinol-RBP-Komplex des Muttertieres, der bekanntlich einer strengen Homöostase unterliegt. VAHLQUIST und NILSSON (1984) vermuten, daß es in der Plazenta, ähnlich wie in anderen epithelialen Geweben, Oberflächenrezeptoren für RBP gibt. Offensichtlich kann der Retinol-RBP-Komplex die uteroplazentare Barriere durchdringen, wobei der Transfer jedoch so reguliert und begrenzt wird, daß die Vitamin A-Speicherung beim Fetus normalerweise bemerkenswert konstant in einem niedrigen Konzentrationsbereich gehalten wird. Möglicherweise soll dadurch der Fetus während der kritischen Phase der Organdifferenzierung vor teratogenen Effekten einer übermäßigen Vitamin A-Zufuhr geschützt werden (TAKAHASHI et al., 1977; BATES, 1983; VAHLQUIST UND NILSSON, 1984).

Da der pränatale, diaplazentare Vitamin A-Transfer offensichtlich begrenzt ist, kommt der Versorgung des Säuglings mit Vitamin A über mütterliches Kolostrum und Milch entscheidende Bedeutung zu (DAVILA et al., 1985). Als Ausgleich für die niedrigen Vitamin A-Reserven der Neugeborenen enthält Kolostrum bei allen untersuchten Spezies wesentlich höhere Vitamin A-Konzentrationen als Milch in späteren Laktationsstadien (JAGADEESAN und PREMA, 1981; JOHNSTON und CHEW, 1984; DAVILA et al., 1985; HUSSEIN et al., 1987). Mit Aufnahme des Kolostrums steigt der Vitamin A-Spiegel in Leber und Serum der Neugeborenen rasch an (ELMOTY und ELMALLA, 1967; DAVILA et al., 1985). Allerdings ist die Vitamin A-Konzentration in der Milch und damit auch der Vitamin A-Status der Säuglinge stark von der Zufuhr über die mütterliche Diät abhängig (TOMLINSON et al., 1974; DAVILA et al., 1985). Bei Mangel an Vitamin A in der Nahrung enthält auch die Milch nur geringe Vitamin A-Konzentrationen (DAVILA et al., 1985). Auch die Säuglinge solcher Muttertiere haben deshalb wesentlich niedrigere Vitamin A-Konzentrationen in Serum und Leber als die Jungtiere von Müttern mit normaler Vitamin A-Versorgung (DAVILA et al., 1985).

VAHLQUIST und NILSSON (1979) konnten durch Isotopenversuche an Rhesusaffen zeigen, daß 90 % des Vitamin A in der Milch aus RBP-gebundenem Retinol des Blutes stammt. Die Autoren vermuten auch in der Milchdrüse Oberflächenrezeptoren für RBP (VAHLQUIST und NILSSON, 1979). Dennoch liegt Vitamin A in der Milch größtenteils in Esterform und nur zu einem geringen Anteil als Retinol vor (TOMLINSON et al., 1976). Offensichtlich wird aus dem Retinol-RBP-Komplex freigesetztes Retinol in der Milchdrüse verestert, während ein kleiner Teil des Vitamin A wahrscheinlich direkt durch Transfer von lipoproteingebundenen Retinylestern in die Milch gelangt (TOMLINSON et al., 1976; VAHLQUIST und NILSSON, 1979).

2.1.4 Vitamin A bei Meeressäugern und terrestrischen Säugetieren

Aus verschiedenen Untersuchungen ist bekannt, daß Meeressäuger und Eisbären im Vergleich zu terrestrischen Säugetieren und Menschen zum Teil extrem hohe Vitamin A-Konzentrationen in der Leber aufweisen (LEWIS und LENTFER, 1967; SOUTHCOTT et al., 1974; SHAUGHNESSY, 1981). Der Verzehr dieser Organe kann beim Menschen Vergiftungserscheinungen hervorrufen (RODAHL und MOORE, 1943; NELSON, 1985). Im Gegensatz dazu werden aber bei in Gefangenschaft gehaltenen Meeressäugern und Eisbären teilweise 10- bis 100-mal niedrigere Vitamin A-Konzentrationen in der Leber als bei wildlebenden Tieren derselben Spezies gefunden (RÜEDI et al., 1979; WILLIAMS und LEWIS, 1982). Dies wird teilweise auf die Fütterung Vitamin A-armer Fische zurückgeführt (RÜEDI et al., 1979). Während die Leber zahlreicher Meeressäuger auf ihren Vitamin A-Gehalt hin untersucht wurden, sind über andere Gewebe und Serum dieser Tierarten nur vereinzelt entsprechende Daten bekannt (WAGNER, 1939; RODAHL und DAVIES, 1949; LEWIS und LENTFER, 1967). Der Vitamin A-Status einer größeren Zahl von Meeressäugern derselben Spezies wurde bislang nur in einer einzigen Studie am Beispiel der Kegelrobbe untersucht (SCHWEIGERT et al., 1987b).

Aus den wenigen in der Literatur beschriebenen Untersuchungen über die Vitamin A-Konzentration in verschiedenen Geweben von Meeressäugern ergeben sich gewisse Gemeinsamkeiten bezüglich der Verteilung von Vitamin A im Organismus. Die jeweils höchsten Vitamin A-Konzentrationen werden in der Leber gefunden, zweithöchste Gehalte im Fettgewebe und niedrigste Werte in Muskulatur und Niere. Entsprechend verhält sich das Verteilungsmuster von Vitamin A in Geweben beim Menschen (RAICA et al., 1972). Die Vitamin A-Konzentra-

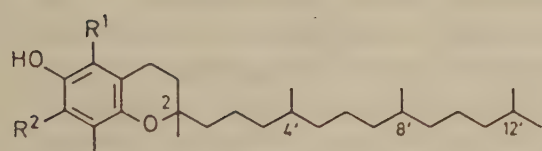
tion in der Leber einiger Meeressäuger ist vergleichbar mit den Werten terrestrischer Säugetiere und des Menschen (FUTTERMAN und ANDREWS, 1964; RAICA et al., 1972; RASMUSSEN et al., 1985; SHUKLA et al., 1986), während die Werte bei verschiedenen anderen Meeressäugern um den Faktor 10 höher sind (SOUTHCOTT et al., 1974; SHAUGHNESSY, 1981). Im Depotfett ermittelte Vitamin A-Konzentrationen sind um den Faktor 10 bis 30 höher als beim Menschen (RAICA et al., 1972). Die im Serum von Kegelrobben nachgewiesenen Vitamin A-Konzentrationen (SCHWEIGERT et al., 1987b) liegen im Bereich der Werte, die für terrestrische Säugetiere und Menschen ermittelt wurden (ISMADI und OLSON, 1975; CHYTIL und ONG, 1979; STOWE, 1982; SHUKLA et al., 1986). Die wenigen bekannten Einzeldaten über den Vitamin A-Gehalt in der Milch von Meeressäugern beschränken sich auf Befunde bei insgesamt 4 Walen und einer einzigen Sattelrobbe (WAGNER, 1939; RODAHL und DAVIES, 1949; GREGORY et al., 1955). Die in der Milch dieser Tiere gefundenen Vitamin A-Konzentrationen sind um den Faktor 2 bis 20 höher als durchschnittliche Werte in Frauen-, Stuten-, Kuh- oder Rattenmilch (STOWE, 1982; LAMMI-KEEFE und JENSEN, 1984; DAVILA et al., 1985; SCHWEIGERT et al., 1987a).

2.2 Vitamin E

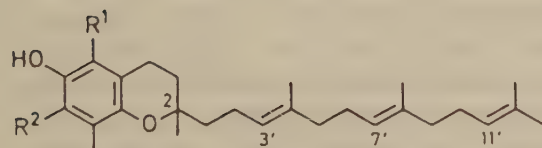
2.2.1 Stoffwechsel

Die Vitamin E-Gruppe besteht aus acht natürlichen, chemisch nahe verwandten Verbindungen (Abb. 2). Gemeinsames Merkmal ist eine 6-Chromanol-Ringstruktur mit einer Seitenkette, die bei den Tocopherolen gesättigt, bei den Tocotrienolen ungesättigt ist. α -Tocopherol besitzt die höchste biologische Vitamin E-Aktivität.

Abb. 2: Natürliche Vitamin E-Verbindungen (ISLER und BRUBACHER, 1982b)



R ¹	R ²	
CH ₃	CH ₃	α -Tocopherol
CH ₃	H	β -Tocopherol
H	CH ₃	γ -Tocopherol
H	H	δ -Tocopherol



R ¹	R ²	
CH ₃	CH ₃	α -Tocotrienol
CH ₃	H	β -Tocotrienol
H	CH ₃	γ -Tocotrienol
H	H	δ -Tocotrienol

Die wichtigsten Quellen für Vitamin E sind Getreidekeime, Ölsaaten, Blattgemüse, tierische Organe und Milch. In tierischen Produkten kommt überwiegend α -Tocopherol vor (ISLER und BRUBACHER, 1982b; MACHLIN, 1984). Die Absorption

von Vitamin E erfolgt im Dünndarm und ist eng verknüpft mit der Absorption von Fetten. Mittelkettige Triglyceride fördern die Absorption von Vitamin E, während mehrfach ungesättigte Fettsäuren einen hemmenden Einfluß ausüben (MACHLIN, 1984). Vitamin E wird dabei in Micellen zusammen mit Gallensäuren, freien Fettsäuren, Monoglyceriden und anderen fettlöslichen Substanzen absorbiert, wobei der Mechanismus des Transfers durch die Darmepithelzellen nicht genau geklärt ist. Im Gegensatz zu Cholesterin und Vitamin A wird α -Tocopherol jedoch bei der Absorption nicht verestert (MACHLIN, 1984). Im Blut wird Vitamin E in Bindung an Lipoproteine transportiert. Im Gegensatz zum Vitamin A ist ein spezifisches Transportprotein im Plasma für Vitamin E nicht bekannt (MACHLIN, 1984). Beim Menschen wird von verschiedenen Autoren sowohl die "Low Density Lipoprotein"-Fraktion (LDL) als auch die "High Density Lipoprotein"-Fraktion (HDL) als wichtigster Carrier von Vitamin E im Blut angegeben (BEHRENS et al., 1982; MACHLIN, 1984). Bei Ratten wiederum fanden RAJARAM et al. (1974) den größten Teil von Vitamin E im Blut in Bindung an die "Very Low Density Lipoprotein"-Fraktion (VLDL). Welche Lipoprotein-Fraktion die wichtigste Carrierfunktion für den Vitamin E-Transport besitzt, ist noch nicht völlig geklärt und möglicherweise auch spezieabhängig.

Da Vitamin E im Blut nicht an ein spezifisches Transportprotein gekoppelt ist, korreliert der Vitamin-E-Spiegel im Blut stark mit dem Lipidgehalt im Serum. Bei pathologisch erhöhtem bzw. erniedrigtem Lipidgehalt im Serum steigt bzw. sinkt auch der Vitamin E-Spiegel im Blut (MACHLIN, 1984). Fettgewebe und Leber sind die Hauptspeicher für Vitamin E. Sehr hohe Gehalte, bezogen auf ein Gramm Frischgewicht, finden sich auch in Hypophyse und Nebenniere (MACHLIN, 1984). Ähnlich wie im Serum unterliegt auch die Vitamin E-Konzentration in den Geweben starken Schwankungen und ist

stark vom Vitamin E-Spiegel im Blut abhängig. Nach der Zufuhr von Vitamin E über die Nahrung nimmt die Aufnahme in die Gewebe mit dem Logarithmus der Vitamin E-Konzentration im Serum zu (WITTING, 1972; MACHLIN, 1984). Darin unterscheidet sich Vitamin E von den meisten anderen Vitaminen, die in einzelnen Geweben, mit Ausnahme der Leber, bestimmte Speicherschwelen besitzen (MACHLIN, 1984). Intrazellulär wird Vitamin E in membranreichen Zellbestandteilen, besonders den Mitochondrien und Mikrosomen, gespeichert. Im Cytosol wurde ein α -Tocopherol-spezifisches "binding-protein" nachgewiesen, das vermutlich den Transport in diese Zellstrukturen erleichtert (RAJARAM et al., 1974; MACHLIN, 1984; TYÖPPÖNEN et al., 1984).

2.2.2 Funktionen

Verschiedene pathologische Veränderungen bei Vitamin E-Mangel deuten darauf hin, daß Vitamin E die Funktion eines natürlichen Antioxidans besitzt. Es zeigte sich nämlich, daß mit steigendem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der Nahrung verstärkt Vitamin E-Mangelsymptome auftreten (WITTING, 1972; MACHLIN, 1984). Ungesättigte Fettsäuren neigen infolge ihrer Doppelbindungen zur Autoxidation und Peroxidbildung (MACHLIN, 1984; GERACI, 1981). Da das Fettsäuremuster in der Diät einen starken Einfluß auf die Fettsäurezusammensetzung im Körperfett ausübt, nimmt mit steigendem Gehalt mehrfach ungesättigter Fettsäuren in der Nahrung auch die Oxidationsempfindlichkeit der Körpergewebe zu (BEYNEN et al., 1980; GERACI, 1981; PLAKKE et al., 1983). Diese Beobachtungen führten zu der Annahme, daß Vitamin E als biologisches Antioxidans Gewebslipide vor Oxidationsprozessen durch freie Radikale schützt. Über den zugrunde liegenden molekularen Wirkungsmechanismus besteht noch Unklarheit, obwohl eine membranstabilisierende Funktion

wahrscheinlich ist. Viele der durch Vitamin E-Mangel verursachten pathologischen Vorgänge können nämlich durch Veränderungen an Membranstrukturen infolge eines Angriffes freier Radikale erklärt werden (MACHLIN, 1984). Dabei äußert sich ein Vitamin E-Mangel je nach Spezies in vielfältigen Symptomen. Muskeldystrophien, Anämien, Steatitis und Fruchtbarkeitsstörungen sind die häufigsten Erscheinungen bei Tieren. Beim Menschen werden in erster Linie pathologische Veränderungen des Nervensystems und hämolytische Anämie bei Neugeborenen im Zusammenhang mit Vitamin E-Mangel diagnostiziert (GERACI, 1981; ISLER und BRUBACHER, 1982b; KAYDEN, 1983; LAMMI-KEEFE und JENSEN, 1984; MACHLIN, 1984).

Neben der wohl hauptsächlichen Funktion als Antioxidans wird auch eine Beteiligung von Vitamin E an der Proteinsynthese diskutiert (MACHLIN, 1984). Außerdem ist bei verschiedenen Säugetieren und Vögeln eine stimulierende Wirkung von Vitamin E auf bestimmte Immunreaktionen bekannt (YASUNAGA et al., 1982; TYÖPPÖNEN et al., 1984). Zudem gibt es Zusammenhänge zwischen dem Grad der Vitamin E-Versorgung und der Inzidenz bestimmter Tumoren beim Menschen (BIRT, 1986).

2.2.3 Transfer von Vitamin E auf Feten und Säuglinge

Über den Transfer von Vitamin E auf Feten und Säuglinge ist wenig bekannt. Feten und Neugeborene verschiedener Spezies haben niedrigere Vitamin E-Konzentrationen in Serum und Geweben als erwachsene Tiere und Menschen (DJU et al., 1958; SCHLOTKE et al., 1978; THOMAS et al., 1981; LAMMI-KEEFE und JENSEN, 1984). Menschliche Feten haben sehr niedrige Plasma-Tocopherol-Spiegel, obwohl bei Frauen während der Schwangerschaft die Vitamin E-Blutspiegel erhöht sind (MINO und NAGAMATU, 1986). Ähnlich wie beim Vitamin A scheint für die Versorgung neugeborener Tiere nicht die diaplazentare

Übertragung von Vitamin E, sondern die Konzentration im Kolostrum und Milch entscheidend zu sein. Diese wiederum ist vom Vitamin E-Gehalt in der Diät des Muttertieres abhängig. SCHLOTKE et al.(1978) konnten dies bei Untersuchungen an Muttersauen und deren Ferkeln zeigen. Unterschiedlich hohe Vitamin E-Gehalte in der Diät trächtiger Sauen haben keinen Einfluß auf den niedrigen Vitamin E-Status neugeborener Ferkel. Hingegen steigt nach der Aufnahme von Kolostrum, das durch ausreichende Vitamin E-Versorgung der Sauen einen hohen Vitamin E-Gehalt hat, die Vitamin E-Konzentration in Leber und Blut der Ferkel rasch an. Die Ferkel Vitamin E-mangelernährter Sauen hingegen haben entsprechend dem Kolostrum nur niedrige Vitamin E-Konzentrationen in Plasma und Leber (SCHLOTKE et al., 1978).

2.2.4 Vitamin E bei Meeressäugern und terrestrischen Säugetieren

Bei Krokodilen, Nerzen und Katzen wird gelegentlich Vitamin E-Mangel nach der Fütterung schlecht gelagerter, sehr tranreicher Fische, wie Thunfisch oder Makrele, festgestellt. Als Ursache wird dabei der hohe Gehalt mehrfach ungesättigter Fettsäuren im Körperfett der Fische und deren Neigung zur Oxidation vermutet (GERACI, 1981). Bei Mangel an α -Tocopherol, das als Antioxidans angesehen wird, kann es zu erhöhter Peroxidalanreicherung in Geweben der fischfressenden Tierarten und infolgedessen zu pathologischen Veränderungen kommen (GERACI, 1981). Heringe und andere Meeresfische stellen auch die Hauptnahrung für Meeressäuger dar (MANSFIELD und BECK, 1977). Da deshalb ein großer Anteil der Gesamtlipide im Futter von Meeressäugern aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren besteht (ENGELHARDT et al., 1975a; GERACI, 1981), setzt sich auch das Depotfett der Meeressäu-

ger entsprechend zusammen (JANGAARD und KE, 1968; WALDORF und VEDROS, 1979; LOCKYER et al., 1984). Da der Vitamin E-Bedarf mit zunehmendem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren in Nahrung und Gewebe steigt (WITTING, 1972; MACHLIN, 1984), ist für Meeressäuger ein hoher Bedarf an Vitamin E zu postulieren.

Allerdings konnte bei Meeressäugern, im Gegensatz zu landlebenden Säugetieren, bisher kein für Vitamin E-Mangel charakteristisches Erscheinungsbild ermittelt werden. Bei Vitamin E-armer Fütterung von Sattelrobben traten lediglich Elektrolytimbalancen und zyklische Störungen im Ablauf des jährlichen Haarwechsels auf (ENGELHARDT und GERACI, 1978). Die typischen Symptome einer Hypovitaminosis E bei terrestrischen Säugetieren, wie Steatitis, Muskeldegeneration, Lebernekrosen und Anämien, wurden bei Meeressäugern nur in Einzelfällen als Zufallsbefunde bei der Sektion erhoben (GERACI, 1981). Der Vitamin E-Status dieser Tiere wurde nicht untersucht, jedoch hält GERACI (1981) aufgrund der pathologischen Befunde einen Vitamin E-Mangel zumindest als Teilursache der Erkrankungen für möglich.

Über den Vitamin E-Status von Meeressäugern sind nur wenige Daten bekannt (ENGELHARDT et al., 1975b; ENGELHARDT und GERACI, 1978). Bei Sattelrobben werden höchste Vitamin E-Konzentrationen im Depotfett gefunden. In Leber, Niere, Skelett- und Herzmuskulatur finden sich Werte in wesentlich niedrigeren, aber untereinander vergleichbaren Konzentrationsbereichen (ENGELHARDT et al., 1975b). Ähnlich verteilt sich Vitamin E auch im Organismus von Menschen, Schweinen und Nerzen, wo ebenfalls höchste Werte im Depotfett und niedrigere Konzentrationen in der Leber gefunden werden. Jedoch sind bei diesen Spezies die Vitamin E-Konzentrationen in Niere und Muskulatur in der Regel erheblich niedriger als

in der Leber (DJU et al., 1958; BIERI und POUKKA EVARTS, 1975; SCHLOTKE et al., 1978; TYÖPPÖNEN et al., 1984). Die im Serum der Sattelrobben ermittelten Vitamin E-Konzentrationen (ENGELHARDT et al., 1975b; ENGELHARDT und GERACI, 1978) sind im Durchschnitt höher als bei Menschen und terrestrischen Säugetieren (CARAVAGGI, 1969; MACHLIN et al., 1979; PARVIAINEN und KOSKINEN, 1983; TYÖPPÖNEN et al., 1984).

2.3 Interaktionen zwischen Vitamin A und Vitamin E

Untersuchungen an Tieren haben gezeigt, daß Individuen mit Vitamin E-Mangel gleichzeitig niedrigere Vitamin A-Spiegel in Serum und Leber haben als Tiere mit normaler Vitamin E-Versorgung (NAPOLI et al., 1984). Umgekehrt führt eine Zufuhr von Vitamin E in hohen Dosen auch zu einer verstärkten Speicherung von Vitamin A in der Leber (YANG und DESAI, 1977). Über die Faktoren, welche die jeweiligen Vitamin A-Konzentrationen in epithelialen Geweben regulieren, ist wenig bekannt. Vitamin E scheint aber an diesen Mechanismen beteiligt zu sein (NAPOLI et al., 1984). Da Vitamin A sehr oxidationsempfindlich ist, wird vermutet, daß Vitamin E als Antioxidans eine schützende Funktion ausübt (MACHLIN, 1984). Außerdem konnte bei Ratten sowohl in vitro als auch in vivo gezeigt werden, daß Vitamin E gewebsspezifisch die Aktivität der Retinylpalmitat-Hydrolasen stimuliert oder hemmt und dadurch einen systemischen Effekt auf den Vitamin A-Stoffwechsel ausübt (NAPOLI et al., 1984).

2.4 Kegelrobben

2.4.1 Beschreibung, Vorkommen

Die Kegelrobbe (*Halichoerus grypus* Fabricius) wurde erstmals von Fabricius 1791 beschrieben (BONNER, 1981). Sie gehört zur Familie der Phocidae (Hundsrobben), Subfamilie Phocinae oder Seehunde. Ihren Namen hat diese Spezies von der kegelförmig vorgestreckten, gekrümmten Schnauze. Im englischen Sprachraum ist sie als "grey seal" bekannt, aber obwohl die Bezeichnung "grau" für die meisten Tiere zutrifft, gibt es auch braune und fast schwarze Farbschläge (BONNER, 1981; KING, 1983). Erwachsene Tiere zeigen eine mehr oder weniger ausgeprägte Fleckung. Das lange, cremefarbene bis weiße Haar der Neugeborenen wird ab der dritten Lebenswoche gewechselt. Bei einer Körperlänge von über zwei Metern wiegen ausgewachsene Bullen 200 bis 300 kg, sehr alte Tiere bis zu 400 kg. Kühe haben ein Gewicht von 150 bis 200 kg und sind bis zu 2 m lang (MANSFIELD, 1977; BONNER, 1981; FEDAK und ANDERSON, 1982; KING, 1983). Kegelrobben können über 40 Jahre alt werden (MANSFIELD, 1977). Ihre Nahrung besteht überwiegend aus Fischen wie Hering, Flunder und Kabeljau. Ihre wichtigsten Feinde sind Haifische, aber auch Eisbären und der Mensch (FEDAK und ANDERSON, 1982; MANSFIELD und BECK, 1977; BRODIE und BECK, 1983).

Kegelrobben leben in gemäßigten und subarktischen Gewässern und verteilen sich heute hauptsächlich auf drei Populationen im östlichen und westlichen Nordatlantik und in der Ostsee. Diese drei Populationen sind geographisch streng getrennt und haben auch unterschiedliche Fortpflanzungszeiten (BONESS und JAMES, 1979; BONNER, 1981). Die größte Einzelpopulation befindet sich mit einem Anteil von rund 30 % aller kanadischen Kegelrobben auf Sable Island (KING, 1983), einer 35 km langen und 1,5 km breiten Sandbank, die im Nordwest-Atlantik

der kanadischen Provinz Nova Scotia vorgelagert ist. Seit 1962 regelmäßig durchgeführte Tierzählungen haben ergeben, daß die Zahl neugeborener Kegelrobben auf Sable Island von 350 im Jahr 1962 auf fast 6000 im Jahr 1984 angestiegen ist, woraus sich ein jährliches Anwachsen der Population um 13 % errechnet. Die Gesamtzahl aller Kegelrobben an der kanadischen Ostküste wird auf 40000 bis 75000 Tiere geschätzt.

2.4.2 Fortpflanzung, Laktation, Jungtierentwicklung

Kegelrobben und andere Vertreter der Phociden zeigen bei der Aufzucht ihrer Jungtiere ein biologisches Verhalten, das sich von dem der meisten anderen großen Säugetiere stark unterscheidet. Die an das Wasser angepaßten Tiere verbringen einen großen Teil ihres Lebens im Meer. Nur während der Fortpflanzungs- und Geburtssaison bleiben sie für längere Zeit durchgehend an Land. Mehrere Wochen lang nehmen die Bullen und Kühe dann weder Nahrung noch Wasser zu sich, sondern zehren von den zuvor angesammelten Fettreserven (BONNER, 1981; FEDAK und ANDERSON, 1982; STEWART und LAVIGNE, 1984; COSTA et al., 1986). Diese Fettreserven, der "Blubber", machen bei Robben 35 bis 55 % der Körpermasse aus (ENGELHARDT et al., 1975b). Die Robbenkühe aller Phociden laktieren nur für wenige Wochen und produzieren eine Milch mit extrem hohem Fett- und Proteingehalt. Nachdem die Säuglinge für die kurze Dauer der Laktation mit dieser energiereichen Milch versorgt worden sind, werden sie von ihren Müttern abrupt entwöhnt. Die entwöhnten Jungtiere leben dann ebenfalls für 1 bis 4 Wochen ohne jegliche Nahrungsaufnahme von Speicherfett. Erst wenn ihr Fellwechsel vollendet ist, gehen sie ins Meer und lernen sich selbst zu ernähren (MANSFIELD, 1966; FEDAK und ANDERSON, 1982; KING, 1983).

Bei den einzelnen Phociden bestehen jedoch Unterschiede in der Laktationsdauer und bezüglich der Jahreszeit, in der Geburt und Paarung stattfinden. Sogar innerhalb der Spezies Kegelrobbe haben die Tiere je nach geographischer Verbreitung unterschiedliche Fortpflanzungszeiten. Kanadische Kegelrobben werden zwischen Ende Dezember und Anfang Februar geboren (MANSFIELD, 1966). Die Neugeborenen sind durchschnittlich 15 bis 17 kg schwer und 90 bis 100 cm lang (MANSFIELD, 1977; BONNER, 1981). Der Geburt schließt sich eine 16 bis 21 Tage dauernde Laktation an, in der die Säuglinge täglich rund 3 kg Milch aufnehmen (BONNER, 1981; FEDAK und ANDERSON, 1982). Während dieser extrem kurzen Säugeperiode kommt es zu einem enormen Energietransfer zwischen Muttertier und Säugling (rund 70 MJ/Tag), der durch eine sehr energiereiche Milch mit über 50 % Fettgehalt und 11 % Proteingehalt gewährleistet wird (MANSFIELD, 1977; FEDAK und ANDERSON, 1982; KING, 1983). Die Jungtiere nehmen innerhalb von 2 bis 3 Wochen durchschnittlich 30 kg an Körpergewicht zu und erreichen damit am Ende der Laktation ein Gewicht von fast 50 kg. 60 bis 70 % davon werden in Form von subcutanem Fettpolster (Blubber) angelegt (MANSFIELD, 1977; FEDAK und ANDERSON, 1982; KING, 1983). In derselben Zeit verlieren die fastenden Muttertiere durchschnittlich 65 kg ihres Körpergewichtes, größtenteils durch Abbau von Unterhautfettgewebe und Muskelfett. Über 80 % der von den Robbenkühen während der Laktation mobilisierten Energie wird für die Ernährung ihrer Säuglinge aufgewendet (FEDAK und ANDERSON, 1982). Gegen Ende der Laktation kommen sie in den Östrus, paaren sich mit den meist polygamen Bullen und kehren ins Meer zurück (BONESS und JAMES, 1979; BONNER, 1981).

Die embryonale Entwicklung zeigt bei der Kegelrobbe eine Besonderheit, die in ähnlicher Weise auch von Rehen, Dachsen und Gürteltieren bekannt ist (KING, 1983). Zehn Tage nach

der Paarung entwickelt sich aus der befruchteten Eizelle eine Blastozyste. Diese tritt in eine Ruhephase ein und bleibt ungefähr 100 Tage ohne weitere Entwicklung im Uterushorn liegen. Erst dann kommt es zur Implantation der Blastozyste in die Uteruswand, wo sich der Fetus weitere 240 Tage bis zur Geburt entwickelt. Insgesamt dauert die Trächtigkeit rund 350 Tage (11,5 Monate), von denen aber nur 250 Tage (8 Monate) auf die aktive Entwicklungsphase des Fetus entfallen. Durch diesen Mechanismus der sogenannten "verzögerten Implantation" finden Geburt und Paarung stets in der gleichen Jahreszeit statt (MANSFIELD, 1978; KING, 1983).

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3 MATERIAL und METHODEN

3.1 Tiere und Probenmaterial

Es wurden Serum- und Milchproben sowie verschiedene Organ- und Gewebeproben von 68 Kegelrobben (*Halichoerus grypus*) aus einer Kolonie auf Sable Island (Kanada) untersucht. Dabei waren adulte männliche Kegelrobben, adulte trächtige und laktierende Weibchen, sowie Jungtiere während und nach der Säugeperiode bis zu einem Alter von etwa 5 Wochen einbezogen.

Bei den erwachsenen Tieren wurde das Alter anhand folgender Kriterien geschätzt: Weibliche Kegelrobben gebären in der Regel erstmals im Alter von vier bis fünf Jahren (MANSFIELD, 1978). Da alle Weibchen entweder hochträchtig waren oder Säuglinge bei sich hatten, wurde bei ihnen ein Mindestalter von vier Jahren angenommen. Kegelrobbenbullen werden zwar mit vier bis fünf Jahren geschlechtsreif, sind aber in diesem Alter vom Paarungsgeschehen noch ausgeschlossen (MANSFIELD, 1978). Sie werden bei Rankämpfen um Weibchen von älteren, kräftigeren Bullen verdrängt. Im allgemeinen kommen daher die Bullen erst in einem Alter von 8 bis 10 Jahren bei der Paarung zum Zuge. Da alle untersuchten Bullen in unmittelbarer Nähe von Weibchen vorgefunden wurden, die sich im Zustand der Hochträchtigkeit oder Laktation und damit kurz vor oder bereits in der paarungsbereiten Phase des Zyklus befanden, ist anzunehmen, daß es sich bei diesen Bullen um mindestens acht- bis zehnjährige Tiere handelte (MANSFIELD, 1978; BONESS und JAMES, 1979; BONNER, 1981).

Jungtiere wurden anhand ihres Alters in 5 Stadien unterteilt. Jedes Stadium entsprach dabei ungefähr einer Entwicklungswoche, wobei vom Zeitpunkt der Geburt ausgegangen wurde. Das für die Zuordnung der Stadien ausschlaggebende Lebensalter der Jungtiere wurde anhand der Beschaffenheit des Fellkleides, dem Grad des Fellwechsels sowie anderen physiologischen Merkmalen bestimmt (RADFORD et al., 1978). Da die Laktation bei Kegelrobben bis zu 3 Wochen dauert (MANSFIELD, 1977), wurden Säuglinge in 3 Säugestadien eingeteilt. Säuglinge im Stadium I waren somit bis zu einer Woche, Säuglinge im Stadium II und III bis zu zwei bzw. bis zu drei Wochen alt. Mit den Stadien IV und V wurden Jungtiere erfaßt, die von ihren Müttern bereits entwöhnt worden waren. Sie waren zum Zeitpunkt der Probennahme ungefähr 4 bzw. 5 Wochen alt (Stadium IV bzw. V). Entsprechend der Säugestadien ihrer Jungtiere wurden auch die laktierenden Weibchen in 3 Laktationsstadien eingeteilt. Müttern von Säuglingen im Stadium I wurde das Laktationsstadium I, Müttern von Säuglingen der Stadien II und III das Laktationsstadium II bzw. III zugeordnet. Sie befanden sich also je nach Stadium in der ersten, zweiten bzw. dritten Woche der Laktation. Ihnen gegenüber stand eine Gruppe aus 5 hochträchtigen Weibchen 1 bis 2 Tage ante partum, von denen auch die zugehörigen Feten untersucht wurden.

Entsprechend ihrem unterschiedlichen Geschlecht und Alter, bzw. bei weiblichen Tieren nach dem Zustand der Trächtigkeit bzw. Laktation wurden alle 68 Tiere in insgesamt 6 Gruppen unterteilt, die unter Berücksichtigung der Laktations- bzw. Jungtierstadien in 11 Untergruppen aufgegliedert wurden. Bei Jungtieren wurde dabei nicht nach männlichem oder weiblichem Geschlecht unterschieden. In Tabelle 1 sind die einzelnen Daten für die Versuchsgruppen zusammengefaßt.

3.2 Probennahme und Probenkonservierung

Sämtliche Proben wurden im Januar 1987 von Dr. F. J. Schweigert (München) während einer Expedition auf Sable Island (Kanada) zur Hauptgeburtszeit der Kegelrobben gesammelt. Die Tiere wurden mit Genehmigung der kanadischen Regierung, Department of Fisheries and Oceans, im Rahmen einer Langzeitpopulationsstudie des Bedford Institute of Oceanography, Dartmouth, Canada, erlegt. Der Tod wurde durch Überprüfen der Augenreflexe festgestellt. Morphometrische Daten (Tab. 2) über Lebergewicht und Dicke des Unterhautfettgewebes über dem Sternum wurden bei allen Tieren ermittelt, bei Jungtieren zusätzlich das Körpergewicht (ANON., 1967).

Unmittelbar nach der Tötung wurde Blut aus der Vena jugularis entnommen und durch Zentrifugation (1200 x g, 10 Min.) innerhalb von 4 bis 6 Stunden Serum gewonnen. Zur Gewinnung der Milch wurden den säugenden Weibchen je 90 I.E. Oxytocin mit einem Blasrohr (Teleinjekt, BRD) i.m. injiziert. Nach Inzision der Haut in der Medianen wurde die im subcutanen Fettgewebe liegende Milchdrüse entlang der Zisterne mit einem Skalpell eröffnet und so die Milch weitgehend kontaminationsfrei gewonnen. Bei den hochträchtigen Tieren wurde die Kolostralmilch in gleicher Weise, jedoch ohne vorausgehende Oxytocingabe gewonnen. Subcutanes Fettgewebe (Blubber) wurde jeweils aus der mittleren Dorsalregion entnommen, alle Leberproben aus dem mittleren Leberlappen. Bei Jungtieren wurde die linke Niere vollständig, bei erwachsenen Tieren nur die kaudale Hälfte entnommen. Die Skelettmuskelproben wurden direkt unter der Fettentnahmestelle aus dem M. longissimus dorsi abgetrennt. Alle Proben wurden bei -20°C aufbewahrt, auf Trockeneis nach München transportiert und dort bis zur chemischen Analyse weiter bei -20°C gelagert.

3.3 Bestimmung von Vitamin A und Vitamin E in Leber, Niere, Fettgewebe, Muskulatur, Plazenta, Hoden, Serum, Milch und Amnionflüssigkeit

3.3.1 Extraktions- und Verseifungsverfahren

Für alle Extraktionsverfahren wurde n-Hexan als organisches Lösungsmittel verwendet, das jeweils 0,05 % (w/v) BHT (Butylhydroxytoluol) als Antioxidans enthielt. Nieren-, Leber-, Muskulatur-, Serum-, Plazenta-, Hoden- und Amnionflüssigkeitsproben wurden nach direkter Extraktion der Lipidanteile über Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) analysiert. Bei Milch- und Fettgewebeproben wurde als weiterer Analysenschritt eine alkalische Verseifung durchgeführt. Milchproben wurden direkt verseift, Fettgewebe zunächst wie die übrigen Organe extrahiert und der so gewonnene Extrakt alkalisch verseift. Anschließend wurden Retinol und Vitamin E mit n-Hexan extrahiert und über Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) analysiert.

Die Extraktion von Vitamin A und Vitamin E aus **Leber, Niere, Skelettmuskulatur, Herzmuskulatur, Plazenta und Hoden** erfolgte in Anlehnung an RADIN (1981) mit einem Gemisch aus n-Hexan und Isopropanol (3:2 v/v). Da durch die Lagerung bei -20° C Gefrierschäden durch Bildung von Oberflächenkristallen möglich sind (BAYFIELD, 1975), wurde von den Organproben nach dem Auftauen eine 1 bis 2 cm dicke Schicht abgetragen und nur tieferliegendes Gewebe verwendet. Nach gründlicher Zerkleinerung mit einem Skalpell wurden etwa 3 g Gewebe auf ein Milligramm genau in einen Zentrifugenbecher aus Polypropylen (100 ml) eingewogen. Anschließend wurde dreimal mit je 10 ml des Hexan-Isopropanol-Gemisches folgendermaßen extrahiert: Nach Zugabe des Extraktionsmittels wurde die Probe einige Sekunden lang mit einem Ultraturrax (Fa. Janke & Kunkel, Staufen) gut homogenisiert und dann bei 4° C zehn

Minuten bei 3.800 U/min. zentrifugiert. Das Extraktionsmittel wurde dann jedesmal quantitativ in einen Meßzylinder abgegossen und der Geweberückstand im Zentrifugenbecher wie beschrieben erneut extrahiert. Nach diesem Vorgang enthielt der Meßzylinder den Lösungsmittelüberstand aus drei Extraktionen. Um eine Phasentrennung zu erreichen, wurde er nach Zugabe von 10 ml einer 0,1-molaren NaCl-Lösung gut durchgeschüttelt (HALLERMAYER, 1976). Bis zur Bildung einer vollständigen Phasentrennung mußte er etwa 30 Minuten stehen bleiben. Anschließend wurde die klare obere, organische Phase in einen Meßkolben (50 ml) übergeführt. Die zurückbleibende wäßrige Phase wurde noch zweimal mit je 5 ml n-Hexan nachextrahiert und nach jeweils ca. 15 Minuten die klare organische Phase in den Meßkolben übergeführt. Zum Erhalt eines definierten Volumens wurde der Meßkolben jeder Probe mit n-Hexan auf 50 ml aufgefüllt. Der so gewonnene Hexanextrakt wurde bis zur weiteren Analyse unter Stickstoff im Dunkeln bei -40° C aufbewahrt.

Für die weitere Bestimmung wurde jeweils ein Aliquot des Extraktes unter Stickstoff zur Trockne eingeeengt und dann der Rückstand in einem Gemisch aus Methanol und Ethanol (80 : 20 v/v) aufgenommen. Da sich der durchschnittliche Gehalt an Vitamin A und Vitamin E in den einzelnen Organen stark unterscheidet, wurden je nach der zu erwartenden Konzentration unterschiedliche Volumina eingeeengt und die Proben bei der Aufnahme in Methanol : Ethanol (80 : 20 v/v) entweder weiterverdünnt oder rückkonzentriert. Leberproben wurden jeweils 1 : 4 verdünnt, Nieren- und Muskelproben hingegen um den Faktor 5 bzw. um den Faktor 12 konzentriert. Die weitere Bestimmung erfolgte über HPLC.

Einige Leberproben wurden zusätzlich anschließend an die Extraktion nach der bei FURR et al. (1984) beschriebenen Methode verseift. Jeweils 0,3 ml des Hexanextraktes wurden

hierfür zunächst unter Stickstoff zur Trockne eingengt. Nach Zugabe von 1 ml einer 10 %igen methanolischen NaOH-Lösung und Begasung mit Stickstoff wurden die Proben 12 Stunden bei Raumtemperatur verseift. Nach Zugabe von 1 ml Aqua dest. wurden die nicht verseifbaren Lipidanteile zweimal mit je 1 ml n-Hexan extrahiert. Die Hexanphasen beider Extraktionen wurden vereinigt, unter Stickstoff zur Trockne eingengt und in 0,3 ml Methanol : Ethanol (80 : 20 v/v) aufgenommen.

Für die Bestimmung von Vitamin A und Vitamin E im **Fettgewebe** wurden zunächst 3 g Unterhautfettgewebe bzw. mesenteriales Fettgewebe nach der für die übrigen Organe beschriebenen Methode extrahiert. Zur weiteren Bestimmung wurde ein Aliquot des so erhaltenen Hexanextraktes alkalisch verseift. Je 300 µl des Extraktes wurden unter Stickstoff zur Trockne eingengt und nach Zusatz von 1 ml ethanolischer KOH (5 g KOH, 5 ml H₂O, 50 ml Ethanol) und Begasung mit Stickstoff 30 Minuten im Wasserbad bei 70° bis 75° C verseift (FROLIK und OLSON, 1984). Nach dem Abkühlen zur Raumtemperatur wurde mit 1 ml Aqua dest. verdünnt und die Lipidanteile zweimal mit je 1 ml n-Hexan extrahiert. Die organischen Phasen aus beiden Extraktionen wurden vereinigt, unter Stickstoff zur Trockne eingengt und der Rückstand in 300 µl Methanol : Ethanol (80 : 20 v/v) aufgenommen. Die weitere Bestimmung erfolgte über HPLC.

Milchproben wurden zur Bestimmung von Vitamin A und Vitamin E ohne vorausgehende Extraktion direkt alkalisch verseift und anschließend mit n-Hexan extrahiert. Da Kegelrobbenmilch aufgrund ihres hohen Fettgehaltes sehr dickflüssig ist, konnte sie nicht pipettiert werden, sondern mußte in die Analysenröhrchen eingewogen werden. Zuvor wurde die aufgetaute Milch 30 Minuten im Wasserbad bei 37° C geschüttelt, um eine flüssigere Konsistenz und eine gleichmäßige Suspen-

sion zu erhalten. Nach Einwaage von ca. 300 mg Milch auf ein Milligramm genau wurde mit 1,5 ml ethanolischer KOH nach Begasung mit Stickstoff 30 Minuten im Wasserbad bei 70° bis 75° C verseift. Nach dem Abkühlen zur Raumtemperatur wurde die Probe mit 1 ml Aqua dest. versetzt und dreimal mit je 1 ml n-Hexan extrahiert. Nach dem Einengen des Extraktes unter Stickstoff bis zur Trockne wurde der Rückstand in 500 µl Methanol : Ethanol (80 : 20 v/v) gelöst. Die weitere Bestimmung erfolgte über HPLC.

Die Extraktion von **Serum und Amnionflüssigkeit** erfolgte in Anlehnung an die bei VUILLEUMIER et al., (1983) beschriebene Methode. Je 200 µl Serum- bzw. Amnionflüssigkeit wurden nach dem Auftauen mit der gleichen Menge Aqua dest. verdünnt und mit 800 µl Ethanol versetzt. Nach zweimaliger Extraktion mit je 1 ml n-Hexan wurde der Extrakt unter Stickstoff zur Trockne eingengt und der Rückstand in 200 µl Methanol : Ethanol (80 : 20 v/v) aufgenommen. Die weitere Bestimmung erfolgte über HPLC.

3.3.2 HPLC-Analysen

Die Auftrennung und Bestimmung aller Probenextrakte erfolgte in einem isokratischen Verfahren der Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC). Pumpe (Modell 6000 A) und der UV-VIS-Detektor (Modell 440) zum Nachweis von Vitamin A stammten von der Fa. Waters Inc., Massachusetts, USA. Als Detektor für Vitamin E wurde ein Fluoreszenzspektrophotometer (Merck, Darmstadt, Modell F 1000) eingesetzt.

Retinol und die Retinylester wurden durch UV-Spektroskopie bei 313 nm gemessen. α -Tocopherol wurde fluorimetrisch bestimmt (Extinktion 290 nm, Emission 330 nm). Als mobile Phase wurde Methanol bei einer Flußrate von 1 ml/min

verwendet. Die Trennung erfolgte über eine Lichrosorb RP-18-Säule, 5 μm , 125 x 4,0 mm, Grom, Ammerbuch. Für die Aufzeichnung der Chromatogramme wurde ein Zweikanal-Integrator der Shimadzu Corp., Japan (Modell CR 5-A) eingesetzt. Injektion der Proben (50 μl) erfolgte durch einen Autosampler (MSI T-660, Kontron Instr., Eching). In Anlehnung an DE LEENHEER et al. (1979) sowie MILLER und YANG (1985) wurden Vitamin A und Vitamin E gleichzeitig analysiert. Mit diesem HPLC-System konnten Retinol, verschiedene Retinylester und α -Tocopherol nachgewiesen werden.

Die Identifizierung von α -Tocopherol, Retinol, Retinylacetat, Retinylpalmitat, Retinyloleat und Retinylstearat erfolgte anhand der Retentionszeit zugesetzter Standards. Für die weitere Identifizierung der chromatographischen Peaks speziell bei Leberproben wurden Leberextrakte verseift und unter den gleichen chromatographischen Bedingungen wie die unverseiften Extrakte über HPLC analysiert. Einige unverseifte Leberextrakte wurden zusätzlich bei verschiedenen Wellenlängen über HPLC analysiert, um die Erkennung von Peaks, bei denen es sich nicht um Vitamin A handelte, zu erleichtern. Hierfür wurden Leberextrakte im Vergleich mit vorhandenen Retinylester-Standards unter gleichen Bedingungen bei Wellenlängen von 254 nm, 280 nm, 313 nm, 340 nm, 365 nm und 436 nm über HPLC analysiert.

Für die Quantifizierung der Konzentrationen von Retinol und α -Tocopherol wurden die Probenpeaks mit Standardlösungen bekannter Konzentration verglichen. Für diese Substanzen sowie für die Vitamin A-Metabolite Retinylpalmitat und Retinylacetat sind für photometrische Messungen bei ihrem Absorptionsmaximum die Extinktionskoeffizienten für verschiedene Lösungsmittel erhältlich, nicht jedoch für andere Retinylester (ROSS, 1981; ISLER und BRUBACHER, 1982a). Die Standards Retinyloleat und Retinylstearat standen außerdem

nicht in hochgereinigter Form zur Verfügung, konnten also nicht zur Quantifizierung, sondern nur für die Identifizierung herangezogen werden. Für weitere Retinylester war, Retinylacetat ausgenommen, kein Standard verfügbar. Um dennoch eine einheitliche Quantifizierung aller Retinylester zu ermöglichen, wurde in Anlehnung an ROSS (1981) vorausgesetzt, daß die UV-Absorption eines Retinylesters bei 313 nm nur dem Retinol-, nicht aber dem Fettsäureanteil zuzuschreiben ist. Ein Molekül Retinol zeigt demnach annähernd die gleiche Absorption wie ein Molekül eines Retinylesters. Daher wurde die Peakfläche der Retinylester mit einer Peakfläche von Retinol bekannter Konzentration verglichen und so die im jeweiligen Ester enthaltene Retinolkonzentration berechnet, die für die Lichtabsorption bei 313 nm und damit für die erhaltene Peakfläche des Esters ausschlaggebend war. Die Retinylester-Konzentrationen wurden entsprechend in Form von Retinoläquivalenten als μg Retinol pro g Naßgewicht der jeweiligen Probe berechnet (HENDRIKS et al., 1985; FURR et al., 1986).

3.3.3 Bestimmung des Fettgehaltes in subcutanem sowie mesenterialem Fettgewebe und Leber

Die Bestimmung des Fettgehaltes erfolgte in Anlehnung an HALLERMAYER (1976) gravimetrisch. Je ein Aliquot des Hexanextraktes, 10 ml bei Leberproben bzw. 5 ml bei Fettgewebeproben, wurde in vorgewogenen Analysenröhrchen eingedampft. Nach dem vollständigen Verdampfen des organischen Lösungsmittels wurde der Fettrückstand in den Probenröhrchen gewogen. Durch Umrechnen auf das gesamte ursprüngliche Hexanvolumen (50 ml) ergab sich dann der Fettgehalt in jeder Probe nach folgender Formel (HALLERMAYER, 1976):

$$\text{Fettgehalt in \%} = (a * V * 100) / (v * E)$$

a = gewogener Fettgehalt im aliquoten Teil in g

V = Gesamtvolumen des n-Hexans jeder Probe (50 ml)

v = Volumen des aliquoten Teiles in ml (5 bzw. 10 ml)

E = Einwaage in g

3.3.4 Standards und Chemikalien

Die Standards Retinol, Retinylacetat und α -Tocopherol lieferte die Fa. Sigma, München. Retinylpalmitat, Retinyl-oleat und Retinylstearat wurden freundlicherweise von der Fa. Hoffmann-La Roche, Basel, zur Verfügung gestellt. Methanol, Isopropanol und n-Hexan wurden in Chromatographie-Qualität von Rathburn, Walkerburn (Schottland) bezogen. Alle übrigen Chemikalien waren p.a. Qualitäten der Fa. Merck, Darmstadt.

3.4 Statistik

Die Ergebnisse sind in den Tabellen als arithmetische Mittelwerte ($\bar{x}$) der jeweiligen Tiergruppe bzw. Untergruppe mit der zugehörigen Standardabweichung ($\pm s$) angegeben. Bei kleinen Probenzahlen innerhalb einer Gruppe ($n < 4$) sind jeweils die Einzelwerte angegeben. Die Korrelationskoeffizienten zwischen einzelnen Parametern wurden mittels der PEARSON'schen Korrelation berechnet (SACHS, 1978). Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Tiergruppen wurden mit Hilfe des Verfahrens nach Scheffé auf Signifikanz geprüft. Sofern sich dabei signifikante Unterschiede ergaben ($p < 0,05$), wurden die entsprechenden Werte im Text angegeben.

4.1 Methodik

4.1.1 Extraktions- und Verseifungsverfahren

In einem Vorversuch wurde die Extraktion der Organ- und Gewebeproben mit einem in der Literatur häufig angegebenen Gemisch aus Chloroform und Methanol (2 : 1 v/v) durchgeführt (OLSON, 1979; ZACHMAN et al., 1984). Im Vergleich zu dem Extraktionsverfahren mit n-Hexan und Isopropanol (3 : 2 v/v) ergab diese Methode nur geringfügig bessere Extraktionsergebnisse. Sie war aber arbeitstechnisch nachteilig, weil sich die interessierende organische Phase (Chloroform) bei diesem Verfahren unter der wäßrigen Phase befand. Die Chloroformphase war deshalb umständlicher zu gewinnen als die obenliegende Hexanphase der ersteren Methode. Aus diesem Grund und wegen der geringeren Toxizität der Substanzen (RADIN, 1981) wurde n-Hexan und Isopropanol der Vorzug gegeben.

In einem weiteren Vorversuch wurde die Haltbarkeit der Organ- und Gewebsextrakte bei der Gefrierlagerung getestet. Die bei -40°C unter Stickstoff dunkel gelagerten Proben wurden in zweitägigem Abstand aufgetaut und über HPLC analysiert. Daraus ergab sich eine Lagerfähigkeit von 8 bis 10 Tagen ohne nennenswerte Verluste von Vitamin A und Vitamin E. Für die Serum- und Amnionflüssigkeitsproben erübrigte sich ein Haltbarkeitstest, da die Proben direkt nach der Extraktion mittels der HPLC analysiert wurden.

In einem dritten Vorversuch wurde zur Bestimmung von Vitamin A und E in Milch bzw. Fettgewebe eine direkte Extraktion wie bei Serum bzw. den anderen Geweben durchgeführt. Aufgrund

des hohen Fettgehaltes der so erhaltenen Extrakte war jedoch eine einwandfreie HPLC-Analyse nicht möglich, weil durch die Fettpartikel das System verunreinigt wurde. Auch eine weitere Verdünnung des Hexanextraktes war nicht möglich, weil dann die Konzentration von Vitamin A und E zu ihrem Nachweis nicht ausgereicht hätte. Aus diesem Grund wurden Milch- und Fettgewebssproben verseift.

Bei der direkten Extraktion der Organ- und Gewebssproben wurden Wiederfindungsraten von durchschnittlich 92 % für Vitamin E, 95 % für Retinol und 93 % für Retinylpalmitat erreicht. Für das Extraktionsverfahren von Serum und Amnionflüssigkeit lagen die Wiederfindungsraten mit 93 % für Vitamin E und 98 % für Vitamin A etwas höher. Bei der Verseifung von Milch und Fettgeweben wurden für Retinol bzw. α -Tocopherol Wiederfindungsraten von jeweils 93 % bzw. 92 % erreicht.

4.1.2 HPLC-Analysen

Das verwendete HPLC-System ermöglichte es, innerhalb von 20 Minuten Retinol, verschiedene Retinylester und α -Tocopherol aufzutrennen. Dabei ergaben sich folgende Retentionszeiten:

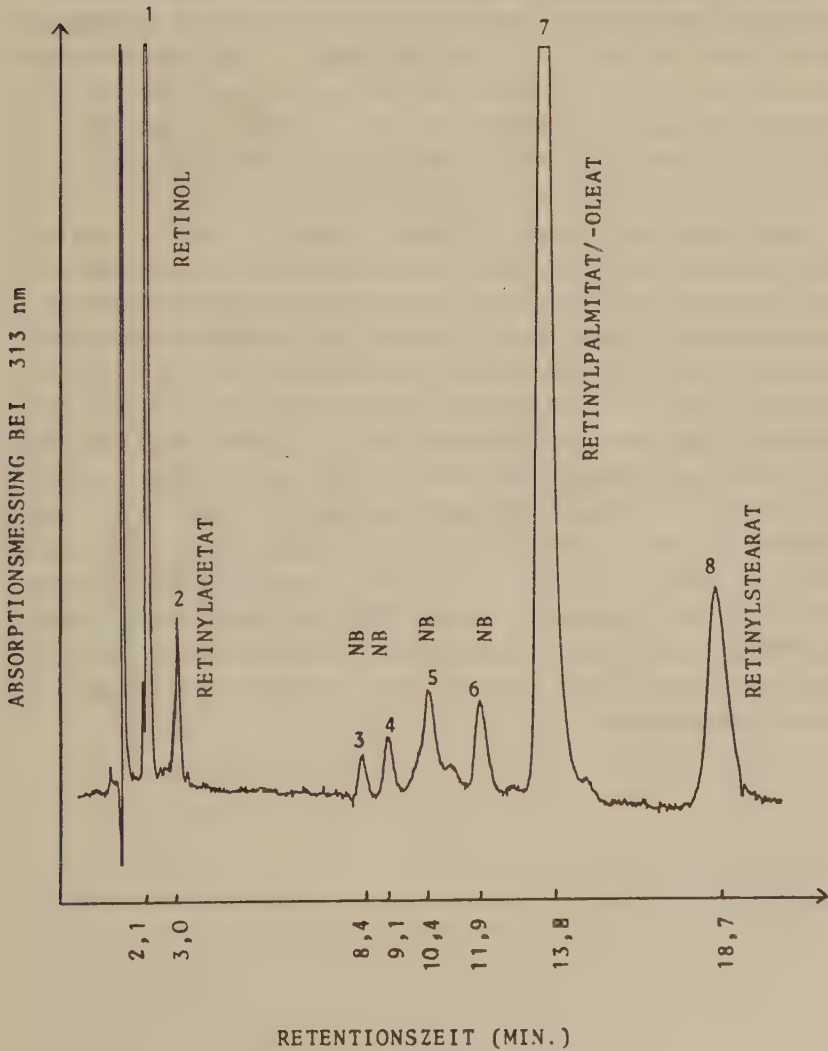
Retentionszeit (Minuten)	
Retinol	2,1
Retinylacetat	3,0
α -Tocopherol	5,4
Retinylpalmitat	13,8
Retinyloleat	13,8
Retinylstearat	18,7

Für die einzelnen Substanzen wurden Nachweisgrenzen (Variationskoeffizient $< 5 \%$) von 2,0 ng für Retinol, 2,4 ng für α -Tocopherol und 3,5 ng für Retinylpalmitat erreicht.

In allen Leberproben waren nach direkter Extraktion mit n-Hexan : Isopropanol (3 : 2 v/v) α -Tocopherol, Retinol und verschiedene Retinylester nachweisbar. Bei UV-spektroskopischer Messung der Proben bei 313 nm wurden im Chromatogramm der Leberproben 8 Peaks aufgezeichnet (Abb. 3). Durch Vergleich mit Standards wurden Retinol (Peak 1), Retinylacetat (Peak 2), Retinylpalmitat/-oleat (Peak 7) sowie Retinylstearat (Peak 8) identifiziert. Retinylpalmitat und Retinyl-oleat ließen sich mit dem verwendeten System nicht trennen und wurden gemeinsam eluiert. Da für weitere Retinylester keine Standards verfügbar waren, konnten die Peaks 3, 4, 5 und 6 nicht eindeutig identifiziert werden. Um zu überprüfen, ob es sich dabei um Vitamin A-Metabolite handelte, wurden Leberextrakte im Vergleich mit Retinylester-Standards bei Wellenlängen von 313 nm, 340 nm, 365 nm, 280 nm, 254 nm und 436 nm unter gleichen chromatographischen Bedingungen über HPLC analysiert.

Alle in den Leberproben eluierten Substanzen und die Retinylester-Standards zeigten ihre jeweils höchste Absorption bei 313 nm und 340 nm, also bei Wellenlängen, die dem Absorptionsmaximum von Vitamin A (326 nm) am nächsten lagen. Die Peaks 3, 4, 5 und 6 zeigten damit bezüglich der Lichtabsorption das gleiche Verhalten wie die Retinylester-Standards. Zur weiteren Überprüfung wurden Leberproben sowohl nach direkter Extraktion als auch im Vergleich dazu nach alkalischer Verseifung des Hexanextraktes über HPLC analysiert. Die Peaks 2 bis 8 waren dann jeweils im Chromatogramm der verseiften Probe nicht mehr nachweisbar. Gleichzeitig kam es zu einer starken Peakflächenzunahme von Retinol.

Abb. 3: Chromatogramm (HPLC) eines Leberextraktes.
 Lichrosorb RP 18-(5 μ m)-Säule, 125 x 4,0 mm;
 Eluent: 100 % Methanol; Flußrate: 1 ml/min.;
 NB = nicht näher bestimmte Retinylester



Die gemessene Flächenzunahme entsprach dabei annähernd der Flächensumme der Peaks 2 bis 8, die in der verseiften Probe nicht mehr nachweisbar waren. Demzufolge waren alle Substanzen, die ihr Absorptionsmaximum bei 313 und 340 nm zeigten, empfindlich gegenüber der Verseifung. Es wurde deshalb angenommen, daß es sich auch bei den nicht durch Standards identifizierten Peaks (3, 4, 5 und 6) um Retinylester handelte, die beim Verseifungsprozeß in Retinol übergeführt wurden (FURR et al., 1986). Sie sind in Abb. 3 und Tab. 6 als "nicht näher bestimmte" Retinylester (NB) aufgeführt.

Im subcutanen Fettgewebe (Blubber) sowie im mesenterialen Fettgewebe und in Milch war nach alkalischer Verseifung und anschließender Extraktion der nicht verseifbaren Lipidanteile das gesamte Vitamin A als Retinol und außerdem α -Tocopherol nachweisbar. In den meisten Serumproben war nur α -Tocopherol und Retinol nachweisbar. Retinylester wurden nur bei insgesamt drei Tieren, nämlich bei je einem Säugling der drei Laktationsstadien gefunden. Nach der Retentionszeit handelte es sich dabei um Retinylpalmitat/-oleat. In allen Nierenproben war α -Tocopherol und Retinol nachweisbar, in Hoden, Plazenta, Herz- und Skelettmuskulatur jeweils Retinol, Retinylpalmitat/-oleat und Retinylstearat sowie α -Tocopherol, jedoch keine anderen Retinylester. In Amnionflüssigkeit konnte nur α -Tocopherol, jedoch kein Vitamin A nachgewiesen werden.

4.2 Morphometrische Daten der untersuchten Kegelrobben

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Gruppeneinteilung der untersuchten Tiere nach Geschlecht, Alter und Zustand der Trächtigkeit oder Laktation mit den entsprechenden Untergruppen. In Tabelle 2 sind die morphometrischen Daten dieser Tiergruppen zusammengefaßt.

Tabelle 1: Gruppeneinteilung der untersuchten Tiere nach Geschlecht, Alter, und jeweiligem Trächtigkeits- bzw. Laktationsstadium und Jungtierstadium. a= Jahre, d= Tage, antep.= ante partum

Gruppen und Untergruppen		Zahl	Alter
Männliche Tiere	M	5	> 8 a
Trächtige Weibchen	WT	5	> 4 a
Laktierende Weibchen	WL I-III	21	> 4 a
Stadium I	WL I	9	
Stadium II	WL II	6	
Stadium III	WL III	6	
Feten	F	5	1-2 d antep.
Säugende Jungtiere	J I-III	19	
Stadium I	J I	7	< 7 d
Stadium II	J II	6	< 14 d
Stadium III	J III	6	< 21 d
Entwöhnte Jungtiere	J IV-V	12	
Stadium IV	J IV	6	< 28 d
Stadium V	J V	6	< 35 d

Im Vergleich zu den trächtigen Weibchen nahmen bei laktierenden Kühen im Verlauf der Laktation die Blubberdicke und das Lebergewicht deutlich ab, so daß die Blubberschicht am Ende der Laktation um mehr als die Hälfte dünner war als bei trächtigen Weibchen. Das Lebergewicht am Ende der Laktation war im Vergleich zu trächtigen Weibchen um 35 % reduziert.

Tabelle 2: Morphometrische Daten der untersuchten Tiere.

* = Dicke des subkutanen Fettgewebes (Blubber) über dem Sternum (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

Gruppe	Zahl	Körpergewicht (kg)	Blubberdicke* (cm)	Lebergewicht (kg)
Männliche Tiere	5	-	4,8 $\pm$ 0,8	9,8 $\pm$ 1,3
Trächtige Weibchen	4	-	5,5 $\pm$ 0,8	4,4 $\pm$ 1,0
Laktierende Weibchen	21	-	3,8 $\pm$ 1,1	3,2 $\pm$ 0,6
Stadium I	9	-	4,8 $\pm$ 0,9	3,6 $\pm$ 0,7
Stadium II	6	-	3,5 $\pm$ 0,8	3,0 $\pm$ 0,5
Stadium III	6	-	2,7 $\pm$ 0,5	2,9 $\pm$ 0,3
Feten	5	17,7 $\pm$ 1,3	0,5 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1
Säugende Jungtiere	16	31,2 $\pm$ 11,6	2,6 $\pm$ 1,2	0,9 $\pm$ 0,3
Stadium I	6	19,1 $\pm$ 4,3	1,5 $\pm$ 0,7	0,5 $\pm$ 0,2
Stadium II	5	31,2 $\pm$ 1,5	2,8 $\pm$ 0,5	1,0 $\pm$ 0,1
Stadium III	5	43,2 $\pm$ 9,3	3,7 $\pm$ 1,2	1,1 $\pm$ 0,1
Entwöhnte Jungtiere	12	47,8 $\pm$ 10,0	3,8 $\pm$ 0,7	1,1 $\pm$ 0,3
Stadium IV	6	45,6 $\pm$ 9,2	3,5 $\pm$ 0,5	1,1 $\pm$ 0,4
Stadium V	6	50,1 $\pm$ 11,0	4,0 $\pm$ 0,8	1,0 $\pm$ 0,3

Das Lebergewicht der Säuglinge am Ende der Säugeperiode und der entwöhnten Jungtiere war um den Faktor 2 größer als bei Feten, während das Körpergewicht sogar um den Faktor 2,5 im Vergleich zu Feten zunahm. Bei Säuglingen im Stadium III und entwöhnten Jungtieren wurde außerdem eine um den Faktor 7,5 größere Blubberdicke über dem Sternum im Vergleich zu Feten gemessen.

4.3 Vitamin A und Vitamin E im Serum

Die Retinolkonzentration im Serum laktierender Weibchen (Tab. 3) unterschied sich deutlich von den Werten der Bullen und trächtigen Weibchen. Außerdem zeigte sich bei den Jungtieren ein Anstieg des Retinolspiegels im Serum mit zunehmendem Entwicklungsalter. Feten (119 $\mu\text{g/l}$) und Säuglinge im Alter bis zu einer Woche (Stadium I, 69 $\mu\text{g/l}$) hatten signifikant niedrigere Retinolkonzentrationen im Serum als alle übrigen Gruppen ($p < 0,01$). Im Verlauf der Säugeperiode kam es zu einem starken Anstieg der Vitamin A-Konzentration im Serum der Säuglinge ($p < 0,01$). Retinylester wurden nur bei drei von 19 Säuglingen in einer Konzentration zwischen 52,8 und 205,3 $\mu\text{g/l}$ gefunden. Wegen der geringen Zahl wurden die Retinylester in Tab. 3 nicht aufgeführt.

Die Retinolkonzentrationen im Serum erwachsener Bullen, trächtiger Weibchen und laktierender Weibchen im Stadium I unterschieden sich nicht wesentlich voneinander (212 bzw. 245 bzw. 251 $\mu\text{g/l}$). Hingegen kam es bei laktierenden Kühen mit fortschreitender Laktation zu einem deutlichen Anstieg der Vitamin A-Konzentration im Serum. Laktierende Weibchen im Stadium II und III (353 bzw. 345 $\mu\text{g/l}$) hatten um 40 % höhere Werte als Weibchen im Stadium I und trächtige Weibchen. Im Durchschnitt waren die Werte laktierender Kühe (307 $\mu\text{g/l}$) auch signifikant höher als bei Bullen ($p < 0,01$).

Tabelle 3: Vitamin A-Konzentrationen (als Retinol-äquivalente) und Vitamin E-Konzentrationen im Serum (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

Gruppe	Zahl	Vitamin A ($\mu\text{g/l}$)	Vitamin E (mg/l)
Männliche Tiere	6	212,4 $\pm$ 59,3	18,6 $\pm$ 12,6
Trächtige Weibchen	5	245,5 $\pm$ 91,8	21,4 $\pm$ 16,0
Laktierende Weibchen	21	307,3 $\pm$ 114,7	13,0 $\pm$ 6,7
Stadium I	9	251,6 $\pm$ 98,3	12,2 $\pm$ 8,0
Stadium II	6	353,4 $\pm$ 97,0	15,1 $\pm$ 3,5
Stadium III	6	344,9 $\pm$ 133,9	12,1 $\pm$ 7,6
Feten	5	119,3 $\pm$ 41,8	4,8 $\pm$ 3,0
Säugende Jungtiere	19	195,6 $\pm$ 143,1	17,1 $\pm$ 15,2
Stadium I	7	69,3 $\pm$ 32,8	19,8 $\pm$ 18,8
Stadium II	6	241,7 $\pm$ 79,0	13,0 $\pm$ 14,1
Stadium III	6	296,6 $\pm$ 170,6	18,3 $\pm$ 13,4
Entwöhnte Jungtiere	12	261,5 $\pm$ 82,4	9,0 $\pm$ 12,6
Stadium IV	6	249,5 $\pm$ 99,6	6,5 $\pm$ 8,8
Stadium V	6	273,5 $\pm$ 68,3	11,4 $\pm$ 16,0

Auch für die Vitamin E-Konzentration im Serum (Tab. 3) ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen laktierenden Weibchen und den anderen erwachsenen Tieren. Zudem bestand eine Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium der Jungtiere.

Erwachsene Bullen und trächtige Weibchen hatten etwa gleich hohe Vitamin E-Konzentrationen im Serum (18,6 bzw. 21,4 mg/l). Die Werte laktierender Kühe (13,0 mg/l) waren jedoch um 30 bzw. 40 % niedriger als bei Bullen bzw. trächtigen Weibchen. Im Vergleich zu den Feten, die von allen Gruppen mit Abstand die niedrigste Vitamin E-Konzentration im Serum aufwiesen (4,8 mg/l), waren die Werte der Säuglinge um den Faktor 3,5 höher (17,1 mg/l) und entsprachen etwa den Werten erwachsener Bullen. Bei entwöhnten Jungtieren war die Vitamin E-Konzentration im Serum wieder fast um die Hälfte niedriger als bei Säuglingen (9,0 mg/l).

4.4 Vitamin A und Vitamin E in der Leber

Für die Vitamin A-Konzentration in der Leber (Tab. 4) ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen erwachsenen Bullen und Weibchen sowie zwischen erwachsenen Tieren und Jungtieren. Ausgewachsene Bullen (609 µg/g) hatten die höchste Vitamin A-Konzentration aller Gruppen in der Leber ($p < 0,05$). Dabei waren die Werte etwa doppelt so hoch wie bei laktierenden und trächtigen Weibchen, die sich nicht wesentlich voneinander unterschieden (301 bzw. 351 µg/g). Laktierende Kühe hatten jedoch etwas niedrigere Vitamin A-Konzentrationen in der Leber als trächtige Weibchen. Bei allen Jungtieren und Feten war die Vitamin A-Konzentration in der Leber wesentlich niedriger als bei den erwachsenen Tieren ($p < 0,05$). Zwischen Feten (132 µg/g), Säuglingen (94 µg/g) und entwöhnten Jungtieren (153 µg/g) bestanden dabei keine signifikanten Unterschiede. Entwöhnte Tiere hatten aber tendenziell die höchsten Werte aller Jungtiere.

Tabelle 4: Vitamin A-Konzentrationen (als Retinol-äquivalente) und Vitamin E-Konzentrationen in der Leber (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

Gruppe	Zahl	Vitamin A ($\mu\text{g/g}$)	Vitamin E ($\mu\text{g/g}$)
Männliche Tiere	6	609,2 $\pm$ 394,6	56,7 $\pm$ 25,1
Trächtige Weibchen	5	351,2 $\pm$ 343,4	87,4 $\pm$ 71,2
Laktierende Weibchen	21	300,8 $\pm$ 357,4	32,5 $\pm$ 9,2
Stadium I	9	274,0 $\pm$ 346,4	36,4 $\pm$ 6,7
Stadium II	6	253,8 $\pm$ 246,0	29,8 $\pm$ 11,7
Stadium III	6	388,0 $\pm$ 495,4	29,3 $\pm$ 8,9
Feten	5	131,8 $\pm$ 141,5	4,1 $\pm$ 1,7
Säugende Jungtiere	19	93,8 $\pm$ 49,7	213,7 $\pm$ 129,8
Stadium I	7	105,3 $\pm$ 49,8	212,1 $\pm$ 132,8
Stadium II	6	116,0 $\pm$ 43,3	232,2 $\pm$ 178,8
Stadium III	6	51,1 $\pm$ 34,2	192,4 $\pm$ 63,9
Entwöhnte Jungtiere	12	152,9 $\pm$ 143,4	33,3 $\pm$ 22,0
Stadium IV	6	98,9 $\pm$ 39,2	26,0 $\pm$ 20,5
Stadium V	6	197,9 $\pm$ 185,8	39,3 $\pm$ 23,1

Tabelle 5 gibt die gesamte Speichermenge an Vitamin A bzw. Vitamin E (mg Vitamin A bzw. mg Vitamin E) in der Leber wieder. Diese wurde jeweils durch Multiplikation des Lebergewichtes (g) mit der Vitamin A- bzw. Vitamin E-Konzentration ($\mu\text{g/g}$ Leber) ermittelt.

Tabelle 5: Gesamte Speichermenge an Vitamin A (als Retinoläquivalente) und an Vitamin E in der Leber sowie Fettgehalt der Leber (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

Gruppe	Zahl	Gesamtmenge Vitamin A (mg)	Gesamtmenge Vitamin E (mg)	Fettgehalt der Leber (%)
Männliche Tiere	5	4940,4 $\pm$ 2297,6	540,3 $\pm$ 280,0	3,3 $\pm$ 2,0
Trächtige Weibchen	5	1798,6 $\pm$ 2338,2	408,3 $\pm$ 484,1	3,8 $\pm$ 0,9
Laktierende Weibchen	21	898,7 $\pm$ 1003,4	104,0 $\pm$ 32,9	4,2 $\pm$ 0,7
Feten	5	68,5 $\pm$ 90,3	2,0 $\pm$ 1,3	2,5 $\pm$ 0,5
Säugende Jungtiere	19	73,3 $\pm$ 48,2	173,4 $\pm$ 85,6	5,5 $\pm$ 1,9
Entwöhnte Jungtiere	12	171,4 $\pm$ 169,9	41,9 $\pm$ 36,8	4,0 $\pm$ 0,7

Auch in der gesamten Speichermenge an Vitamin A in der Leber zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen erwachsenen Tieren und Jungtieren. Feten, Säuglinge und entwöhnte Jungtiere hatten signifikant weniger Vitamin A in der Leber als die erwachsenen Bullen und Weibchen ($p < 0,01$). Die Werte entwöhnter Jungtiere (171 mg) waren aber um den Faktor 2,5 höher als bei Säuglingen und Feten (73 bzw. 68 mg), die sich nur geringfügig unterschieden. Bullen (4940 mg) hatten mit Abstand die höchsten Werte aller Tiere ($p < 0,01$). Bei laktierenden Weibchen (900 mg) war die in der Leber gespeicherte Vitamin A-Menge um die Hälfte niedriger als bei trächtigen Weibchen (1800 mg).

Vitamin A in der Leber verteilte sich im arithmetischen Mittel der einzelnen Gruppen zu 18,6 bis 32,3 % auf Retinol und entsprechend zu 67,7 bis 81,4 % auf die verschiedenen Retinylester (Tab. 6). Bei säugenden Jungtieren war der Anteil von Retinol am Vitamin A-Gehalt der Leber am niedrigsten (18,6 %). Unter den Retinylestern dominierte Retinylpalmitat/-oleat mit einem Anteil von 60,9 bis 86,0 % an der gesamten Esterfraktion. Retinylstearat (9,0 bis 20,3 %) war der zweithäufigste Ester bei allen Tiergruppen mit Ausnahme der Feten, wo Retinylstearat nur 1 % der Esterfraktion ausmachte. Die übrigen, nicht näher bestimmten Retinylester und Retinylacetat hatten zusammen einen Anteil von 8,6 bis 18,8 %.

Bei der Vitamin E-Konzentration in der Leber (Tab. 4) waren auffallende Besonderheiten bei Säuglingen und laktierenden Weibchen erkennbar. Während sich die Werte erwachsener Bullen und trächtiger Weibchen nicht signifikant unterschieden (56 bzw. 87 $\mu\text{g/g}$), war die Vitamin E-Konzentration in der Leber laktierender Weibchen beträchtlich niedriger (32 $\mu\text{g/g}$, $p < 0,05$). Im Gegensatz dazu war die Vitamin E-Konzentration in der Leber der Säuglinge extrem hoch (214 $\mu\text{g/g}$) und unterschied sich damit signifikant von den Werten aller anderen Gruppen ($p < 0,01$). Säuglinge hatten um den Faktor 50 höhere Werte als Feten. Auffallend war außerdem der starke Abfall der Vitamin E-Konzentration in der Leber entwöhnter Jungtiere im Vergleich zu Säuglingen (33 $\mu\text{g/g}$).

Auch bei der Gesamtspeichermenge an Vitamin E in der Leber (Tab. 5) zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen erwachsenen Tieren und Jungtieren sowie zwischen laktierenden und trächtigen Weibchen. Laktierende Kühe (104 mg) hatten um den Faktor 4 bzw. 5 weniger Vitamin E in der Leber

Tabelle 6: Prozentuale Verteilung von Retinol und Retinylestern in der Leber (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, NB = nicht näher bestimmte Retinylester).

Gruppe	Zahl	Vitamin A Retinolform (%)	Vitamin A Esterform (%)	Anteil einzelner Retinylester am gesamten Retinylestergehalt (%) -palmitat, -oleat	-stearat	-acetat/ NB
Männliche Tiere	6	30,6 $\pm$ 6,0	69,4 $\pm$ 6,0	68,8 $\pm$ 9,3	17,3 $\pm$ 3,3	13,9 $\pm$ 3,6
Trächtige Weibchen	5	21,2 $\pm$ 8,8	78,8 $\pm$ 8,8	60,9 $\pm$ 15,0	20,3 $\pm$ 16,0	18,8 $\pm$ 9,6
Laktierende Weibchen	21	32,0 $\pm$ 13,7	68,0 $\pm$ 13,7	62,8 $\pm$ 9,6	17,7 $\pm$ 7,6	13,5 $\pm$ 6,2
Feten	5	32,3 $\pm$ 14,4	67,7 $\pm$ 14,4	86,0 $\pm$ 8,6	1,0 $\pm$ 2,3	13,0 $\pm$ 7,8
Säugende Jungtiere	19	18,6 $\pm$ 9,4	81,4 $\pm$ 9,4	77,5 $\pm$ 9,8	9,0 $\pm$ 6,1	13,4 $\pm$ 5,6
Entwöhnte Jungtiere	12	31,8 $\pm$ 12,0	68,2 $\pm$ 12,0	71,4 $\pm$ 5,3	20,0 $\pm$ 2,2	8,6 $\pm$ 5,3

gespeichert als trächtige Weibchen und Bullen (408 bzw. 540 mg, $p < 0,01$). Alle erwachsenen Tiere hatten wesentlich größere Vitamin E-Mengen in der Leber gespeichert als die Jungtiere, mit Ausnahme der Säuglinge (173 mg), bei denen die Werte höher als bei laktierenden Kühen waren. Bei Feten (2 mg) waren die Werte 20- bis 270-mal niedriger als bei allen anderen Gruppen.

Der Fettgehalt in der Leber (Tab. 5) schwankte bei den einzelnen Gruppen zwischen 2,5 und 5,5 %, wobei Feten den geringsten prozentualen Fettgehalt aufwiesen (2,5 %). Säuglinge hingegen (5,5 %) hatten einen signifikant höheren Fettgehalt in der Leber als alle anderen Gruppen ($p < 0,01$). Zwischen dem Fettgehalt und der Vitamin A-Konzentration der Leber war keine Korrelation vorhanden, während mit wachsendem Fettgehalt die Vitamin E-Konzentration in der Leber zunahm ($r = 0,6$; $p < 0,01$).

4.5 Vitamin A und Vitamin E im subcutanen Fettgewebe (Blubber)

Für die Vitamin A-Konzentration im Blubber (Tab. 7) ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen erwachsenen Tieren auf der einen und Jungtieren auf der anderen Seite. Innerhalb dieser Gruppen waren jedoch keine wesentlichen Unterschiede zu erkennen. Erwachsene Tiere hatten um den Faktor 10 bis 15 höhere Vitamin A-Konzentrationen im Blubber als alle Jungtiere und die Feten ($p < 0,01$). Dabei unterschieden sich die Werte der Bullen, trächtigen und laktierenden Weibchen nicht (45,1 bzw. 45,6 bzw. 46,4 $\mu\text{g/g}$). Auch zwischen den erheblich niedrigeren Vitamin A-Konzentrationen im Blubber der Feten, Säuglinge und entwöhnten Jungtiere waren keine signifikanten Unterschiede vorhanden (4,8 bzw. 3,0 bzw. 3,9 $\mu\text{g/g}$).

Tabelle 7: Vitamin A-Konzentrationen (als Retinoläquivalente) und Vitamin E-Konzentrationen sowie Fettgehalt im Blubber (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

Gruppe	Zahl	Vitamin A ($\mu\text{g/g}$)	Vitamin E ($\mu\text{g/g}$)	Fettgehalt (%)
Männliche Tiere	6	45,1 $\pm$ 10,4	34,0 $\pm$ 8,2	80,0 $\pm$ 7,1
Trächtige Weibchen	5	45,6 $\pm$ 30,1	37,8 $\pm$ 17,9	78,3 $\pm$ 4,6
Laktierende Weibchen	21	46,4 $\pm$ 20,8	50,3 $\pm$ 16,7	73,1 $\pm$ 12,5
Stadium I	9	47,1 $\pm$ 12,5	46,2 $\pm$ 16,7	78,5 $\pm$ 10,7
Stadium II	6	41,4 $\pm$ 8,2	47,3 $\pm$ 18,0	70,3 $\pm$ 13,9
Stadium III	6	50,3 $\pm$ 36,9	59,4 $\pm$ 14,3	67,9 $\pm$ 12,6
Feten	2	5,9 3,6	2,0 2,5	57,7 48,0
Säugende Jungtiere	19	3,0 $\pm$ 1,1	12,9 $\pm$ 4,2	71,1 $\pm$ 9,6
Stadium I	7	3,9 $\pm$ 0,8	9,4 $\pm$ 4,5	68,0 $\pm$ 11,9
Stadium II	6	2,5 $\pm$ 0,5	14,8 $\pm$ 2,9	71,1 $\pm$ 10,7
Stadium III	6	2,3 $\pm$ 1,1	14,9 $\pm$ 2,3	74,8 $\pm$ 4,0
Entwöhnte Jungtiere	12	3,9 $\pm$ 2,8	18,1 $\pm$ 3,2	69,7 $\pm$ 8,7
Stadium IV	6	4,4 $\pm$ 3,9	19,0 $\pm$ 2,9	64,7 $\pm$ 10,1
Stadium V	6	3,3 $\pm$ 1,0	17,2 $\pm$ 3,5	74,7 $\pm$ 2,5

Für die Vitamin E-Konzentration im Blubber (Tab. 7) ergaben sich ebenfalls starke Unterschiede zwischen erwachsenen Tieren und Jungtieren. Zusätzlich waren Unterschiede innerhalb der Jungtiergruppen und Feten sowie zwischen laktierenden Weibchen und den anderen erwachsenen Tieren zu erkennen. Die Vitamin E-Konzentration im Blubber der Bullen

unterschied sich praktisch nicht von den Werten trächtiger Weibchen (34,0 bzw. 37,8 $\mu\text{g/g}$). Laktierende Kühe dagegen hatten um 30 % höhere Werte als Bullen und trächtige Weibchen (50,3 $\mu\text{g/g}$, $p < 0,01$). Die Vitamin E-Konzentration im Blubber aller Jungtiere und Feten war deutlich niedriger als bei den erwachsenen Tieren, wobei die Werte bei Feten mit Abstand am niedrigsten waren.

Der Fettgehalt im Blubber (Tab. 7) schwankte bei den einzelnen Gruppen zwischen 64,7 und 80 %. Dabei war der Fettgehalt bei Jungtieren tendenziell etwas niedriger als bei erwachsenen Tieren. Insgesamt waren aber keine wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu erkennen. Zwischen dem Fettgehalt im Blubber und dem Retinolgehalt bestand eine positive Korrelation ($r = 0,2$; $p < 0,01$), ebenso zwischen dem Fettgehalt im Blubber und der Vitamin E-Konzentration ($r = 0,3$; $p < 0,01$).

4.6 Vitamin A und Vitamin E in der Niere

Die Vitamin A-Konzentration (Tab. 8) in der Niere trächtiger Weibchen (4,2 $\mu\text{g/g}$) war um die Hälfte niedriger als bei Bullen und laktierenden Weibchen, deren Werte sich nur geringfügig voneinander unterschieden (7,7 bzw. 8,1 $\mu\text{g/g}$, $p < 0,01$). Säuglinge (5,4 $\mu\text{g/g}$), Feten (3,4 $\mu\text{g/g}$, $p < 0,01$) und entwöhnte Jungtiere (3,6 $\mu\text{g/g}$, $p < 0,01$) hatten niedrigere Vitamin A-konzentrationen in der Niere als Bullen und laktierende Weibchen. Bei Säuglingen kam es im Verlauf der Säugeperiode zu einem starken Anstieg der Vitamin A-Konzentration in der Niere. Die Werte der entwöhnten Jungtiere waren dagegen wieder deutlich niedriger und entsprachen damit den Werten der Feten.

Tabelle 8: Vitamin A-Konzentrationen (als Retinol-äquivalente) und Vitamin E-Konzentrationen in der Niere (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

Gruppe	Zahl	Vitamin A ($\mu\text{g/g}$)	Vitamin E ($\mu\text{g/g}$)
Männliche Tiere	6	7,7 $\pm$ 3,1	31,0 $\pm$ 8,5
Trächtige Weibchen	5	4,2 $\pm$ 1,8	23,6 $\pm$ 5,4
Laktierende Weibchen	21	8,1 $\pm$ 2,6	27,3 $\pm$ 8,1
Stadium I	9	7,5 $\pm$ 2,4	27,0 $\pm$ 9,7
Stadium II	6	8,9 $\pm$ 3,7	27,1 $\pm$ 9,8
Stadium III	6	8,3 $\pm$ 1,8	28,0 $\pm$ 4,1
Feten	5	3,4 $\pm$ 0,7	2,9 $\pm$ 1,7
Säugende Jungtiere	19	5,4 $\pm$ 1,7	31,6 $\pm$ 9,4
Stadium I	7	3,8 $\pm$ 1,4	26,0 $\pm$ 11,8
Stadium II	6	6,0 $\pm$ 1,5	35,8 $\pm$ 8,3
Stadium III	6	6,6 $\pm$ 0,6	33,9 $\pm$ 3,4
Entwöhnte Jungtiere	12	3,6 $\pm$ 1,2	22,0 $\pm$ 4,9
Stadium IV	6	3,6 $\pm$ 1,7	20,6 $\pm$ 6,0
Stadium V	6	3,5 $\pm$ 1,0	23,1 $\pm$ 4,0

Die Vitamin E-Konzentrationen (Tab. 8) in der Niere erwachsener Bullen, trächtiger und laktierender Weibchen unterschieden sich nicht signifikant (31,0 bzw. 23,6 bzw. 27,3 $\mu\text{g/g}$). Feten (2,9 $\mu\text{g/g}$) hatten um den Faktor 7 bis 10 niedrigere Werte als alle übrigen Gruppen ($p < 0,01$).

Bei Säuglingen (31,6 $\mu\text{g/g}$) kam es zu einem signifikanten Anstieg der Vitamin E-Konzentration in der Niere im Vergleich zu Feten ($p < 0,01$), so daß die Werte ähnlich hoch wie die der Bullen waren. Entwöhnte Jungtiere hingegen hatten wieder deutlich niedrigere Vitamin E-Konzentrationen in der Niere als die Säuglinge (22,0 $\mu\text{g/g}$, $p < 0,05$).

4.7 Vitamin A und Vitamin E in der Milch

Die Vitamin E-Konzentration im Kolostrum trächtiger Weibchen war mehr als doppelt so hoch wie in der Milch laktierender Weibchen (40,3 bzw. 18,7 mg/kg, $p < 0,02$). Auch innerhalb der 3 Laktationsstadien war ein deutlicher Abfall der Vitamin E-Konzentration in der Milch um den Faktor 3,5 feststellbar (32,7 bzw. 9,1 mg/kg, $p < 0,01$).

Tabelle 9: Vitamin A-Konzentrationen (als Retinol-äquivalente) und Vitamin E-Konzentrationen in Kolostrum und Milch (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

Gruppe	Zahl	Vitamin A ($\mu\text{g/kg}$)	Vitamin E (mg/kg)
Trächtige Weibchen	4	3301 $\pm$ 2045	40,3 $\pm$ 4,7
Laktierende Weibchen	20	2742 $\pm$ 1617	18,7 $\pm$ 14,0
Stadium I	8	3189 $\pm$ 1072	32,7 $\pm$ 11,9
Stadium II	6	2030 $\pm$ 1078	9,7 $\pm$ 3,9
Stadium III	6	2860 $\pm$ 2493	9,1 $\pm$ 2,9

Die Retinolkonzentration in der Milch laktierender Weibchen war durchschnittlich nur wenig niedriger als im Kolostrum trächtiger Weibchen (2742 bzw. 3301 $\mu\text{g/kg}$). Auch die Retinolkonzentrationen in der Milch der drei verschiedenen Laktationsstadien unterschieden sich nur wenig. Nach geringer Abnahme zur Laktationsmitte hin war der Retinolgehalt in der Milch am Ende der Laktation nur unbedeutend niedriger als zu Beginn der Laktation (2859 bzw. 3189 $\mu\text{g/kg}$).

4.8 Vitamin A und Vitamin E in Herzmuskulatur, Skelettmuskulatur, Hoden, Plazenta, mesenterialem Fettgewebe und Amnionflüssigkeit

Am Vitamin A-Gehalt in Hoden und Muskulatur hatten die Retinylester einen Anteil von über 90 %, während bei den zwei untersuchten Plazentaprobe n der Retinolanteil mit 100 bzw. 60 % dominierte. Aufgrund der geringen Gesamt-Konzentration wurde Vitamin A in diesen Geweben in Tab. 10 nicht nach Retinol und Retinylestern unterschieden.

Für die Skelettmuskulatur (Tab. 10) waren innerhalb der einzelnen Tiergruppen keine wesentlichen Unterschiede im Vitamin A- und Vitamin E-Gehalt feststellbar, so daß das arithmetische Mittel aus allen untersuchten Proben angegeben wurde. Sowohl in der Herz- als auch in der Skelettmuskulatur waren sehr niedrige Vitamin A-Konzentrationen im Bereich unter 0,1 $\mu\text{g/g}$ enthalten. Die Vitamin E-Konzentration betrug im Mittel 12,4 $\mu\text{g/g}$ im Herzmuskel und 9,0 $\mu\text{g/g}$ im Skelettmuskel und war damit um ein Vielfaches höher als die Vitamin A-Konzentration. Zwischen beiden Muskeltypen war demnach kein nennenswerter Unterschied festzustellen.

Im Hoden (Tab. 10) waren relativ niedrige Vitamin A-Konzentrationen (3,5 $\mu\text{g/g}$) und um den Faktor 10 höhere Vitamin E-Konzentrationen nachweisbar (35,8 $\mu\text{g/g}$).

Plazentagewebe (Tab. 10) wurde nur bei zwei Tieren untersucht, wobei die Ergebnisse zwischen den beiden Proben stark schwankten. Auch in den Plazenten war aber jeweils wesentlich weniger Vitamin A als Vitamin E nachweisbar (0,2 bzw. 7,5 $\mu\text{g/g}$ und 2,8 bzw. 27,3 $\mu\text{g/g}$).

In Amnionflüssigkeit (Tab. 10) konnte nur Vitamin E (268 $\mu\text{g/l}$), jedoch kein Vitamin A nachgewiesen werden.

Tabelle 10: Vitamin A-Konzentrationen (als Retinol-äquivalente) und Vitamin E-Konzentrationen in verschiedenen Geweben und Amnionflüssigkeit (Einzelwerte bzw. Mittelwerte + Standardabweichung, *= $\mu\text{g/l}$, #=nicht nachweisbar).

Probenmaterial	Zahl	Vitamin E ($\mu\text{g/g}$)	Vitamin A ($\mu\text{g/g}$)
Plazenta	2	7,5 27,3	0,2 2,8
Hoden	6	35,8 $\pm$ 3,1	3,5 $\pm$ 1,5
Herzmuskel	13	12,4 $\pm$ 4,6	<0,1
Skelettmuskel	11	9,0 $\pm$ 5,7	<0,1
Amnionflüssigkeit	5	267,9 $\pm$ 96,7*	#

Insgesamt wurden 10 Proben mesenterialen Fettgewebes von je zwei Tieren aus 5 verschiedenen Gruppen untersucht (Tab. 11). Zwischen den beiden Tieren einer Gruppe bestanden zum Teil große Schwankungen, besonders der Retinol-Konzentration. Beim Vergleich der Vitamin A- bzw. Vitamin E-Konzentration im mesenterialen Fettgewebe mit den entsprechenden Werten im Blubber desselben Tieres (Tab. 11) zeigten sich jedoch tendenzielle Unterschiede zwischen beiden Vitaminen.

Tabelle 11: Vitamin A-Konzentrationen (als Retinoldäquivalente) und Vitamin E-Konzentrationen in mesenterialem Fettgewebe (Mes.) und Blubber (Blub.) sowie Fettgehalt in mesenterialem Fettgewebe jeweils desselben Tieres (Einzelwerte).

Gruppe	Zahl	Vitamin A ($\mu\text{g/g}$)		Vitamin E ($\mu\text{g/g}$)		Fett- gehalt Mes. (%)
		Mes.	Blub.	Mes.	Blub.	
Männliche Tiere	2	105,1 87,4	45,6 38,3	26,6 25,9	39,8 35,7	65,5 47,5
Trächtige Weibchen	2	195,5 70,0	98,0 33,7	19,6 11,4	46,6 64,6	55,3 59,6
Laktierende Weibchen Stadium III	2	386,6 76,9	117,3 27,0	28,2 25,4	68,3 63,8	38,9 50,6
Säugende Jungtiere Stadium III	2	1,4 10,5	1,6 4,5	18,3 12,6	15,5 18,3	72,2 26,9
Entwöhnte Jungtiere Stadium V	2	8,1 6,7	4,8 2,1	30,7 10,0	22,9 16,7	38,1 71,6

Während die Retinolkonzentration im mesenterialen Fettgewebe bei 9 von 10 Proben um den Faktor 2-6 höher war als im Blubber desselben Tieres, waren die Verhältnisse bei Vitamin E genau umgekehrt. Bei 6 von 10 Proben war die Vitamin E-Konzentration im mesenterialen Fettgewebe um den Faktor 1,2 bis 3 niedriger als im Blubber.

Der Fettgehalt des mesenterialen Fettgewebes (Tab. 11) schwankte bei den einzelnen Tieren stark zwischen 26,9 und 72,2 % und war durchschnittlich niedriger als im Blubber. Zwischen dem Fettgehalt und der Retinol- bzw. der Vitamin E-Konzentration im mesenterialen Fettgewebe bestand keine Korrelation.

5 DISKUSSION

Erwachsene Kegelrobben nehmen während der Fortpflanzungszeit und Laktation, ebenso wie die Jungtiere nach Beendigung der Säugeperiode, mehrere Wochen lang keinerlei Nahrung auf und leben in dieser Zeit von Speicherfett (BONNER, 1981; FEDAK und ANDERSON, 1982). Säuglinge waren die einzigen untersuchten Tiere, die vor der Probennahme Nahrung und damit auch Vitamin A und Vitamin E aufgenommen hatten. Bei laktierenden Weibchen zeigten die Ergebnisse Besonderheiten, die sich im Zusammenhang mit der Milchproduktion und dem gleichzeitigen Fastenzustand ergaben. Bedingt durch diese unterschiedlichen Stoffwechsellagen, waren bei den einzelnen untersuchten Tiergruppen deutliche Unterschiede im Vitamin A- und Vitamin E-Status zu erkennen. Adulte, nicht laktierende Robben, laktierende Weibchen und Jungtiere werden daher getrennt diskutiert.

5.1 Vitamin A und Vitamin E bei erwachsenen, nicht laktierenden Kegelrobben

Die Vitamine A und E konnten in allen untersuchten Serum- und Gewebeproben, mit Ausnahme von Vitamin A in der Amnionflüssigkeit, nachgewiesen werden. Die im Serum gefundene Vitamin A-Konzentration stimmt mit den für Kegelrobben bekannten Ergebnissen überein (SCHWEIGERT et al., 1987b) und liegt im Bereich der Werte verschiedener terrestrischer Säugetiere (DONOGHUE et al., 1982; STOWE, 1982; TOMASSI und OLSON, 1983; SHUKLA et al., 1986).

Über die Vitamin E-Konzentration im Serum von Meeressäugern gibt es nur wenige Untersuchungen an in Gefangenschaft gehaltenen Sattelrobben (ENGELHARDT et al., 1975b). Die im

Vergleich zu den freilebenden Kegelrobben höheren Werte dieser Tiere lassen sich durch die Fütterung einer Diät mit Vitamin E-Zusatz erklären, da die Vitamin E-Konzentration im Serum stark von der Vitamin E-Zufuhr über die Nahrung abhängt (MACHLIN, 1984).

In den Geweben der untersuchten Kegelrobben wurden beide Vitamine hauptsächlich in Leber und subcutanem Fettgewebe (Blubber) gespeichert, wobei die höchste Konzentration jeweils in der Leber gefunden wurde. Die Vitamin A-Konzentration in der Leber der männlichen Kegelrobben war etwa doppelt so hoch wie bei Weibchen, worin die Ergebnisse mit bekannten Daten übereinstimmen (SCHWEIGERT et al., 1987b). Das höhere Durchschnittsalter der untersuchten Bullen könnte die Ursache dieser Unterschiede sein, da eine Altersabhängigkeit der Vitamin A-Konzentration in der Leber bei Kegelrobben und anderen Robbenspezies von verschiedenen Autoren beobachtet wurde (RODAHL und DAVIES, 1949; SHAUGHNESSY, 1981; SCHWEIGERT et al., 1987b). Die durchschnittliche Vitamin A-Konzentration in der Leber aller untersuchten adulten Kegelrobben lag im Bereich der Werte, die für verschiedene Meeressäuger (WAGNER, 1939; RODAHL und DAVIES, 1949; SOUTHCOTT et al., 1974; SCHWEIGERT et al., 1987b) sowie für terrestrische Säugetiere und Menschen bekannt sind (RAICA et al., 1972; TOMASSI und OLSON, 1983; RASMUSSEN et al., 1985). Bei einigen Meeressäugern werden im Vergleich zu den Kegelrobben aber zehnmal höhere Vitamin A-Konzentrationen in der Leber gefunden (LEWIS und LENTFER, 1967; SOUTHCOTT et al., 1974; SHAUGHNESSY, 1981), was sich möglicherweise durch unterschiedliche Vitamin A-Mengen in der Nahrung erklären läßt (SHAUGHNESSY, 1981).

Der bei den Kegelrobben ermittelte hohe Prozentsatz von Retinol in der Leber (20 bis 40 %) ist nur mit der Katze vergleichbar, bei der die Vitamin A-Menge der Leber zu 50 %

aus Retinol besteht (FUTTERMAN und ANDREWS, 1964). Bei den meisten anderen terrestrischen Säugetieren liegt dagegen der Anteil von Retinol an der Vitamin A-Menge der Leber unter 5 % (FUTTERMAN und ANDREWS, 1964; RASMUSSEN et al., 1985; BATRES und OLSON, 1987). Unter den Retinylestern in der Leber dominierte bei den untersuchten Kegelrobben Retinylpalmitat/-oleat mit einem Anteil von 60,9 bis 86 %, worin die Ergebnisse mit denen terrestrischer Säugetiere übereinstimmen (BHAT und LACROIX, 1983; TOMASSI und OLSON, 1983; BATRES und OLSON, 1987).

Die Vitamin E-Konzentration in der Leber der Kegelrobben war mehrfach höher als beim Menschen (RAICA et al., 1972). Da die Speicherung von Vitamin E in Geweben stark von der Aufnahme über die Nahrung abhängt (MACHLIN, 1984), läßt sich dies durch den hohen Vitamin E-Gehalt in Fischen, der Hauptnahrung der Meeressäuger, erklären (ACKMAN und CORMIER, 1967). Im Vergleich zu den untersuchten Kegelrobben ist die in der Literatur beschriebene Vitamin E-Konzentration in der Leber von drei Sattelrobben (ENGELHARDT et al., 1975b) deutlich niedriger. Dies ist möglicherweise auf die Auswahl der Sattelrobben - Weibchen nach der Geburt - zurückzuführen, da auch bei den untersuchten Kegelrobben die laktierenden Weibchen eine bedeutend niedrigere Vitamin E-Konzentration in der Leber hatten als Bullen und trächtige Weibchen.

Die im Blubber der untersuchten Kegelrobben nachgewiesene Vitamin A-Konzentration war im Vergleich zur Leber 7- bis 14-mal niedriger. Die Werte lagen jedoch 30-mal höher als im Depotfett des Menschen (RAICA et al., 1972), worin die Ergebnisse mit den für Kegelrobben und andere Meeressäuger bekannten Befunden übereinstimmen (LEWIS und LENTFER, 1967; SCHWEIGERT et al., 1987b). Berücksichtigt man, daß der Blubber 35 bis 55 % (ENGELHARDT et al., 1975b), die Leber dagegen nur 3,5 bis 4 % des Körpergewichtes der Robben

beträgt, so werden die Vitamin A-Reserven in diesen beiden Geweben mengenmäßig etwa zu gleichen Teilen gespeichert. Dies wurde bereits von SCHWEIGERT et al. (1987b) bei der Kegelrobbe beobachtet. Damit unterscheiden sich die Kegelrobben vom Menschen und von terrestrischen Säugetieren, bei denen über 90 % der Vitamin A-Reserven des Körpers in der Leber gespeichert werden (GOODMAN und BLANER, 1984; WOLF, 1984).

Die Vitamin E-Konzentration im Blubber der Kegelrobben war um den Faktor 3 bis 10 niedriger als beim Menschen (IMAICHI et al., 1965; BIERI und POUKKA EVARTS, 1975; KAYDEN, 1983). Nerze, die eine Diät mit hohem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren erhalten, haben ähnlich niedrige Vitamin E-Konzentrationen im Depotfett wie die Kegelrobben (TYÖPPÖNEN et al., 1984). Durch die überwiegende Ernährung mit Fischen bestehen auch die Lipide im Futter der Meeressäuger zu einem großen Teil aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren (ENGELHARDT et al., 1975a; GERACI, 1981). Ein entsprechendes Fettsäuremuster weist auch das Depotfett der Meeressäuger auf (JANGAARD und KE, 1968; WALDORF und VEDROS, 1979; LOCKYER et al., 1984), womit sich die relativ niedrige Vitamin E-Konzentration im Blubber möglicherweise erklären läßt. Es wird angenommen, daß Vitamin E als Antioxidans mehrfach ungesättigte Fettsäuren vor den Angriffen freier Radikale schützt und dabei verbraucht wird (MACHLIN, 1984). Berücksichtigt man aber andererseits den hohen Anteil des Blubbers am Körpergewicht, so stellt auch bei Kegelrobben das subcutane Fettgewebe wie beim Menschen den mengenmäßig größten Vitamin E-Speicher dar (RAICA et al., 1972; KAYDEN, 1983).

Die in der Niere der untersuchten Kegelrobben gefundene Vitamin A-Konzentration war, entsprechend den Ergebnissen von RODAHL und DAVIES (1949), mehrfach höher als bei den

meisten terrestrischen Säugetieren und beim Menschen (MOORE et al., 1963; RAICA et al., 1972). Diese hohen Konzentrationen werden aber noch von Werten der Katze übertroffen (MOORE et al., 1963).

Die Vitamin E-Konzentration in der Niere der Kegelrobben war doppelt so hoch wie bei Sattelrobben (ENGELHARDT et al., 1975b) und mehrfach höher als beim Menschen (DJU et al., 1958; BIERI und POUKKA EVARTS, 1975). Dies weist darauf hin, daß die Vitamin E-Konzentration in der Niere, ähnlich wie die Vitamin A-Konzentration, stark speziesabhängig ist.

In der Muskulatur der untersuchten Kegelrobben wurde eine sehr niedrige Vitamin A-Konzentration und eine im Vergleich zu anderen Geweben niedrige Vitamin E-Konzentration gefunden. Dies entspricht Ergebnissen bei Sattelrobben (ENGELHARDT et al., 1975b) und beim Menschen (DJU et al., 1958; RAICA et al., 1972).

In der untersuchten Amnionflüssigkeit konnte nur ein sehr niedriger Vitamin E-Gehalt und kein Vitamin A nachgewiesen werden. Letzteres bestätigt Ergebnisse bei Rhesusaffen, bei denen Vitamin A ebenfalls nicht oder nur in sehr niedrigen Konzentrationen in Amnionflüssigkeit nachweisbar ist (VAHLQUIST und NILSSON, 1984).

5.2 Vitamin A und Vitamin E bei laktierenden Kegelrobben

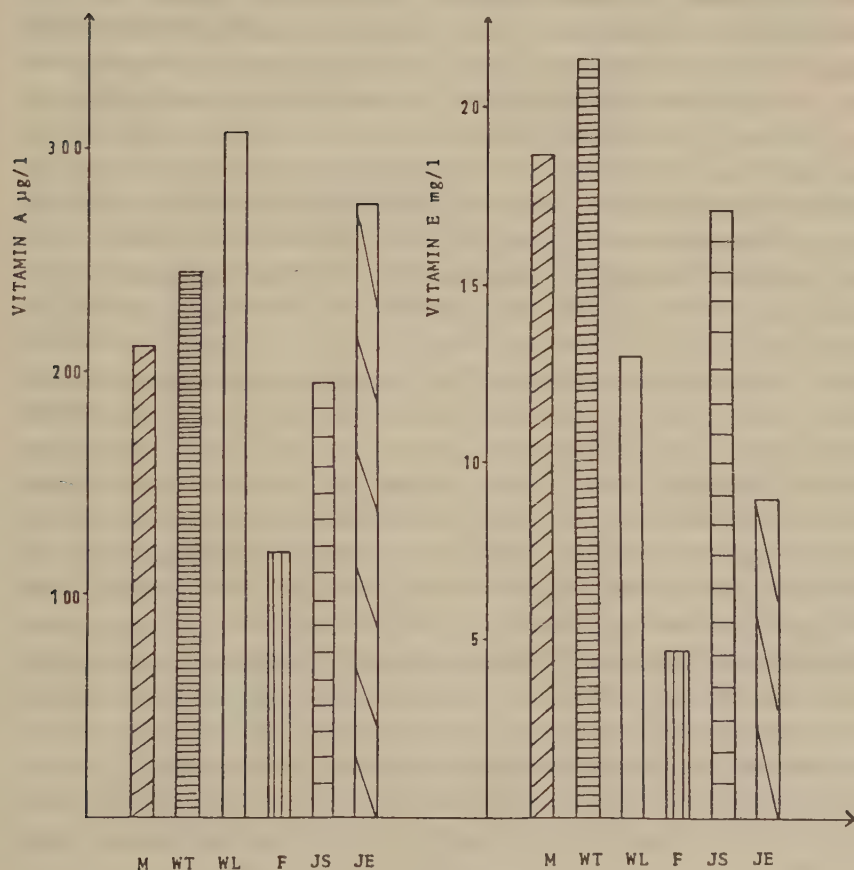
Kegelrobben nehmen während der Fortpflanzungszeit und Laktation mehrere Wochen lang keinerlei Nahrung auf (BONNER, 1981; FEDAK und ANDERSON, 1982). Dadurch und durch die gleichzeitige Laktation wird der Vitamin A- und Vitamin E-Status laktierender Kegelrobben stark beeinflußt. Obwohl die

Tiere vollständig fasten, produzieren sie eine extrem energiereiche Milch mit über 50 % Fettgehalt (BONNER, 1981; FEDAK und ANDERSON, 1982). Dabei kommt es zu einem enormen Energietransfer vom Muttertier zum Säugling, wofür die Robbenkühe 80 % der von ihnen mobilisierten Energie aufwenden müssen (FEDAK und ANDERSON, 1982). Die gesamte Energiemenge wird aus endogenen Speichern freigesetzt. Infolgedessen verlieren die Tiere während der Laktation durchschnittlich 65 kg und damit rund ein Drittel ihres Körpergewichtes. Dabei werden vor allem große Anteile des Blubbers, aber auch andere Gewebe abgebaut (FEDAK und ANDERSON, 1982). Die morphometrischen Daten der hier untersuchten Tiere bestätigen bei laktierenden Kegelrobben im Vergleich zu trächtigen Weibchen eine Abnahme des Lebergewichtes um ein Drittel und eine Verringerung der Blubberdicke um 50 % bis zum Ende der Laktation.

Die Retinolkonzentration im Serum laktierender Kegelrobben war deutlich höher als bei Bullen und trächtigen Weibchen, worin die Ergebnisse mit den Angaben von SCHWEIGERT et al. (1987b) übereinstimmen. Im Gegensatz dazu ist bei terrestrischen Säugetieren der Einsatz der Laktation mit einem vorübergehenden Abfall des Retinolspiegels im Serum verbunden (STOWE, 1982; JOHNSTON und CHEW, 1984). Da laktierende Kegelrobben keine Nahrung aufnehmen, muß das im Blut enthaltene Vitamin A bei diesen Tieren vollständig aus Speichergeweben stammen. Die hohe Retinolkonzentration im Serum laktierender Kegelrobben läßt sich daher möglicherweise auf eine Mobilisierung von Vitamin A aus Leber und Blubber im Zusammenhang mit dem starken Abbau dieser Gewebe zurückführen.

Die Vitamin E-Konzentration im Serum laktierender Kegelrobben war, anders als die Retinolkonzentration, deutlich niedriger als bei Bullen und trächtigen Weibchen. Ein Abfall

Abb. 4: Vitamin A- und Vitamin E-Konzentration im Serum (Mittelwerte $\bar{x}$). M = männl. Tiere, WT = trächtige Weibchen, WL = laktier. Weibchen, F = Feten, JS = Säuglinge, JE = entwöhnte Jungtiere



der Vitamin E-Konzentration im Serum nach der Geburt ist auch bei Frauen nachgewiesen (JAGADEESAN und PREMA, 1981). Die Ursache ist im Mechanismus des Vitamin E-Transportes und im Zusammenhang mit der Milchproduktion zu vermuten. Vitamin E wird im Serum an Lipoproteine gebunden transportiert, weshalb die Vitamin E-Konzentration des Serums eng mit dem Lipidgehalt des Serums korreliert (MACHLIN, 1984). Es liegt daher nahe, daß auch der niedrige Vitamin E-Gehalt im Serum laktierender Kegelrobben durch eine Abnahme des Lipidgehaltes im Serum verursacht wurde. Tatsächlich konnte bei den untersuchten Kegelrobben mit dem Einsetzen der Laktation eine starke Erniedrigung des Triglyzeridgehaltes im Serum beobachtet werden (SCHWEIGERT, persönliche Mitteilung). Da bei allen untersuchten Spezies 20 bis 80 % der in der Milch enthaltenen Lipide in der Milchdrüse synthetisiert werden (ADDISON und BRODIE, 1987), ist anzunehmen, daß bei laktierenden Kegelrobben Lipoproteine für die Synthese der fettreichen Milch dem Blut entzogen werden und dann nicht mehr für den Transport von Vitamin E zur Verfügung stehen.

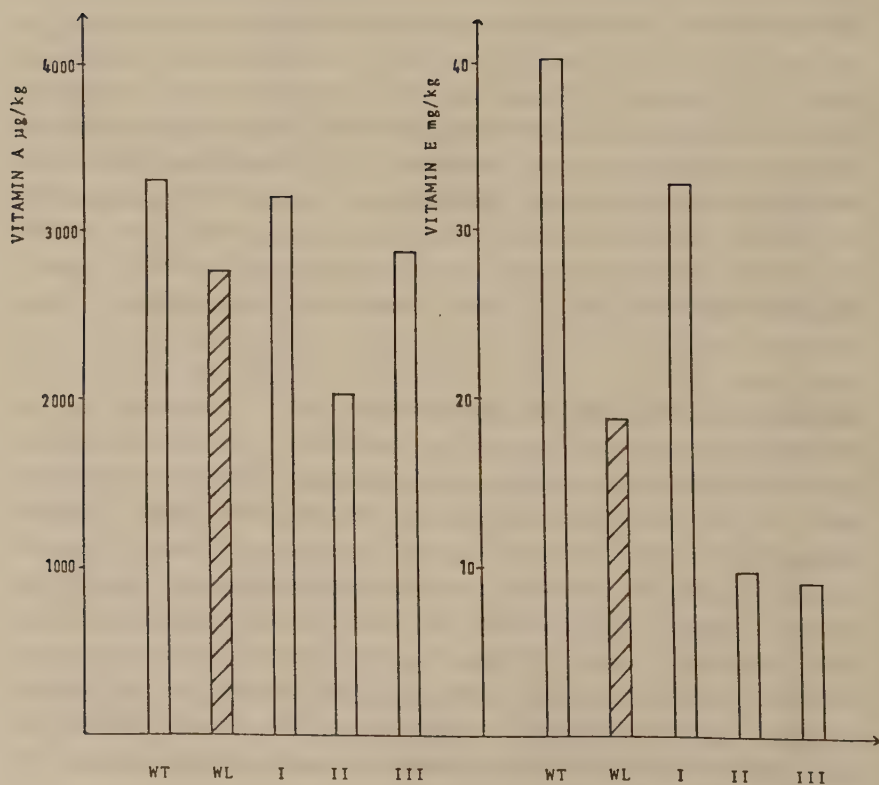
Die vorliegenden Ergebnisse der Milchuntersuchungen zeigen, daß laktierende Kegelrobben große Mengen an Vitamin A und Vitamin E in die Milch sezernieren. In 1 kg Milch waren etwa 20 mg Vitamin E und 3 mg Vitamin A enthalten. Bei einer Laktationsdauer von 20 Tagen und einer täglichen Produktion von 3 kg Milch (KING, 1983) gehen damit insgesamt 1200 mg Vitamin E und 180 mg Vitamin A in die Milch über. Die Vitamin A-Konzentration in der Milch der untersuchten Kegelrobben entspricht den bekannten Werten einer einzigen Sattelrobbe und einiger Wale (RODAHL und DAVIES, 1949; GREGORY et al., 1955), ist aber mehrfach höher als bei verschiedenen terrestrischen Säugetieren (STOWE, 1982; DAVILA et al., 1985). Bei terrestrischen Säugetieren wird auch mit zunehmender Laktation ein starker Abfall der Vitamin A-Konzentration in der Milch beobachtet, so daß die

Werte im Kolostrum wesentlich höher als in Milch späterer Laktationsstadien sind (STOWE, 1982; DAVILA et al., 1985). Davon weichen die Ergebnisse der untersuchten Kegelrobben ab, bei denen über alle Laktationsstadien eine relativ konstant hohe Vitamin A-Konzentration in der Milch beobachtet werden konnte. Dies läßt sich vermutlich auf den hohen Retinolgehalt im Serum laktierender Kegelrobben zurückführen, da das in der Milch enthaltene Vitamin A vor allem aus RBP-gebundenem Retinol des Blutes stammt (VAHLQUIST und NILSSON, 1979). Auch bei Milchkühen bewirkt eine Erhöhung des Retinolspiegels im Serum, in diesem Fall durch intravenöse Injektion von Retinol, einen Anstieg der Vitamin A-Konzentration in der Milch (TOMLINSON et al., 1976).

Über die Vitamin E-Konzentration in der Milch von Meeressäugern sind keine Untersuchungen bekannt. Die in Kolostrum und Milch der Kegelrobben gefundenen Werte waren zwei- bis zwanzigmal höher als bei Muttersauen und beim Menschen. Wie bei diesen Spezies fiel die Vitamin E-Konzentration in der Milch der Kegelrobben mit fortschreitender Laktation stark ab (SCHLOTKE et al., 1978; JAGADEESAN und PREMA, 1981; THOMAS et al., 1981).

Laktierende Kegelrobben sezernieren also Vitamin A und Vitamin E in großen Mengen in die Milch, obwohl sie diese Substanzen nicht über die Nahrung aufnehmen. Im Gegensatz dazu wurde bei terrestrischen Säugetieren eine starke Abhängigkeit der Vitamin A- und Vitamin E-Gehalte in der Milch von der Zufuhr über die Nahrung beobachtet (TOMLINSON et al., 1974; SCHLOTKE et al., 1978; SCHINGOETHE et al., 1979; DAVILA et al., 1985). Bei Mangel an Vitamin A bzw. Vitamin E in der Diät enthält auch die Milch nur wenig Vitamin A bzw. Vitamin E (SCHLOTKE et al., 1978; DAVILA et al., 1985). Bei laktierenden Kegelrobben hingegen müssen die

Abb. 5: Vitamin A- und Vitamin E-Konzentration in der Milch (Mittelwerte $\bar{x}$). WT = trächtige Weibchen; WL = laktierende Weibchen; I, II, III = Laktationsstadium I - III



in hoher Konzentration in die Milch ausgeschiedenen Vitamine vollständig aus endogenen Speichern stammen, was die vorliegenden Ergebnisse zeigen konnten.

Gleichzeitig mit dem Abbau von einem Drittel des Lebergewebes im Vergleich zu trächtigen Weibchen kam es zu einer Abnahme der Gesamtspeichermenge an Vitamin A bzw. Vitamin E in diesem Organ. 50 % (900 mg) der in der Leber gespeicherten Vitamin A-Menge bzw. 75 % (300 mg) der Vitamin E-Menge der Leber wurden insgesamt während der Laktation mobilisiert. Dies ging einher mit einer starken Abnahme der Vitamin E-Konzentration und einer geringen Abnahme der Vitamin A-Konzentration pro Gramm Leber im Vergleich zu trächtigen Weibchen.

Im Blubber laktierender Weibchen hingegen stieg die Vitamin E-Konzentration um 30 % im Vergleich zu trächtigen Weibchen an, während die Vitamin A-Konzentration im Blubber keine Veränderung zeigte. Eine gleichbleibende Vitamin A-Konzentration bei starker Abnahme des Blubbervolumens um etwa 50 % bis zum Ende der Laktation läßt den Schluß zu, daß mit der Mobilisierung des Depotfettes auch das darin gespeicherte Vitamin A freigesetzt wurde. Auch der im Vergleich zu dem Gewichtsverlust des Blubbers deutlich geringer ausgeprägte Anstieg der Vitamin E-Konzentration im Blubber im Verlauf der Laktation läßt eine, wenn auch begrenzte, Mobilisierung von Vitamin E aus dem Depotfett erkennen. Darauf deutet auch der hohe Vitamin E-Gehalt in der Milch der Kegelrobben hin, der nur zu einem Viertel aus der Leber stammt, während der restliche Anteil hauptsächlich aus dem Blubber mobilisiert werden muß, da in anderen Körpergeweben insgesamt wesentlich weniger Vitamin E als im Blubber gespeichert wird. In gleicher Weise wie die Vitamine A und E werden Pestizide (DDT, PCBs) aus dem Blubber laktierender Robben freigesetzt (AGUILAR, 1987). Im Gegensatz zu den laktieren-

den Robben konnte bei Meerschweinchen (MACHLIN et al., 1979) und beim Menschen (SCHAEFER et al., 1983) in Fastenstudien unter starker Gewichtsreduktion beim Abbau von Depotfett nur eine geringfügige bzw. überhaupt keine Mobilisierung von Vitamin E beobachtet werden.

5.3 Vitamin A und Vitamin E bei Feten, Säuglingen und entwöhnten Jungtieren

Die untersuchten Feten hatten beträchtlich niedrigere Vitamin A- und Vitamin E-Konzentrationen in Serum, Leber, Depotfett und Niere als die erwachsenen Tiere. Dies entspricht Ergebnissen bei allen untersuchten terrestrischen Säugetieren (DJU et al., 1958; ISMADI und OLSON, 1975; SCHLOTKE et al., 1978; STOWE, 1982; DAVILA et al., 1985; SHUKLA et al., 1986). Die Retinolkonzentration im Serum war um die Hälfte niedriger als bei trächtigen Muttertieren, was mit Untersuchungen beim Menschen übereinstimmt (ISMADI und OLSON, 1975; VAHLQUIST und NILSSON, 1984). Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß auch bei Kegelrobben die intrauterine Übertragung der Vitamine A und E vom Muttertier auf den Fetus nur in begrenztem Umfang stattfindet, wie es von terrestrischen Säugetieren her bereits bekannt ist (SCHLOTKE et al., 1978; BATES, 1983; DAVILA et al., 1985).

Die Vitamin A-Konzentration im Serum der untersuchten Säuglinge, die als einzige Tiere exogen Vitamin A und Vitamin E über die Milch erhielten, war deutlich höher als bei Feten. Auch von terrestrischen Säugetieren und Menschen ist bekannt, daß mit der Aufnahme von Kolostrum, das einen hohen Vitamin A-Gehalt aufweist, die Vitamin A-Konzentration im Serum der Neugeborenen stark ansteigt (ELMOTY und ELMALLA, 1967; BATES, 1983; LAMMI-KEEFE und JENSEN, 1984; DAVILA et al., 1985). Im Gegensatz zu allen anderen unter-

suchten Kegelrobben, bei denen Vitamin A im Serum nur als Retinol nachweisbar war, wurden bei drei Säuglingen auch Retinylester im Serum gefunden. Darin stimmen die Ergebnisse mit Untersuchungen bei den meisten anderen Spezies überein, bei denen Vitamin A im Blut überwiegend durch RBP-gebundenes Retinol vertreten ist. Nur ein kleiner Teil wird, hauptsächlich kurz nach der Nahrungsaufnahme, in Form von Retinylestern in Bindung an Lipoproteine transportiert (KÜBLER und LORENZ, 1963; WOLF, 1984). Entsprechend konnten Retinylester im Serum der Kegelrobben nur bei Säuglingen, die Vitamin A aus der Milch absorbieren konnten, nicht aber bei den anderen, fastenden Tieren nachgewiesen werden.

Wie bei terrestrischen Säugetieren und Menschen (SCHLOTKE et al., 1978; JAGADEESAN und PREMA, 1981) nahm auch die Vitamin E-Konzentration im Serum der säugenden Kegelrobben mit der Aufnahme der Vitamin E-reichen Milch stark zu. Die untersuchten Säuglinge hatten damit höhere Vitamin E-Gehalte im Serum als laktierende Weibchen. ADDISON und BRODIE (1987) konnten bei säugenden Kegelrobben im Vergleich zu ihren Müttern auch höhere Lipidgehalte im Serum nachweisen, was auf den hohen Fettgehalt in der Robbenmilch zurückzuführen ist. Das Serum der hier untersuchten Kegelrobben-Säuglinge hatte auch makroskopisch einen beträchtlichen Fettgehalt. Da die Vitamin E-Konzentration im Serum stark mit dem Lipidgehalt des Serums korreliert (MACHLIN, 1984), lassen sich die hohen Vitamin E-Spiegel im Serum der Säuglinge gleichzeitig auf die hohen Gehalte an Vitamin E und Fett in der aufgenommenen Milch zurückführen.

Obwohl den Säuglingen Vitamin A in großen Mengen über die Milch zugeführt wurde und aus der Nahrung absorbiertes Vitamin A normalerweise auf dem Blutweg zuerst in die Leber gelangt (GOODMAN und BLANER, 1984; WOLF, 1984), hatte die Vitamin A-Konzentration in der Leber der Säuglinge im

Vergleich zu Feten sogar abnehmende Tendenz. Da die gesamte in der Leber gespeicherte Vitamin A-Menge aber gegenüber Feten unverändert blieb, läßt sich der beobachtete Konzentrationsabfall durch die Verdoppelung des Lebergewichtes bei Säuglingen im Vergleich zu Feten erklären. Letzteres wird durch die morphometrischen Daten der untersuchten Tiere belegt.

Wesentlich auffälliger wirkte sich die Milchaufnahme bei Säuglingen auf die Vitamin E-Konzentration in der Leber aus, die 50-fach im Vergleich zu den Feten anstieg und damit mehrfach höher als bei den erwachsenen Tieren war. Auch bei Säugferkeln wird nach Aufnahme eines Vitamin E-reichen Kolostrums eine rasche Akkumulation von Vitamin E in der Leber beobachtet, wobei ebenfalls bis zu 50-mal höhere Werte als zum Zeitpunkt unmittelbar nach der Geburt erreicht werden (SCHLOTKE et al., 1978). Diese Ergebnisse stimmen auch mit Isotopenversuchen an Ratten, Hühnern und Sattelrobben überein, die gezeigt haben, daß nach oraler oder intravenöser Verabreichung von Vitamin E innerhalb von 24 Stunden die jeweils höchsten Vitamin E-Konzentrationen in der Leber gefunden werden. Hohe Werte sind jeweils auch im Plasma und, verglichen mit anderen Geweben, in der Niere nachweisbar (KRISHNAMURTHY und BIERI, 1963; MELLORS und BARNES, 1966; ENGELHARDT, 1977). Entsprechend reicherte sich Vitamin E auch im Organismus der säugenden Kegelrobben an. Wie bei anderen Robbenspezies (RODAHL und DAVIES, 1949) hatten die Säuglinge außerdem von allen untersuchten Tieren den höchsten Fettgehalt in der Leber, wodurch wahrscheinlich die Aufnahme von Vitamin E in die Säuglingsleber noch gefördert wurde. Zwischen dem Fettgehalt der Leber und dem Vitamin E-Gehalt der Leber bestand bei den untersuchten Kegelrobben eine positive Korrelation.

Trotz der hohen Vitamin A-Gehalte in der Milch war auch die Vitamin A-Konzentration im Blubber der Säuglinge ähnlich niedrig wie bei Feten. Hierbei muß aber berücksichtigt werden, daß säugende Kegelrobben innerhalb der zwei- bis dreiwöchigen Säugeperiode durch die Aufnahme einer extrem energiereichen Milch ihr Körpergewicht fast verdreifachen. Dabei kommt es vor allem zu einem enormen Zuwachs an Blubber (FEDAK und ANDERSON, 1982). Die morphometrischen Daten der untersuchten Kegelrobben bestätigen bei Jungtieren bis zum Ende der Säugeperiode eine Zunahme der Blubberdicke um den Faktor 7,5 und des Körpergewichtes um den Faktor 2,5 im Vergleich zu Feten. Aufgrund des Verdünnungseffektes durch das starke Wachstum ist daher auch bei einer weitgehend unveränderten Vitamin A-Konzentration im Blubber der Säuglinge eine starke zusätzliche Speicherung von Vitamin A im Depotfett anzunehmen.

Die Vitamin E-Konzentration im Blubber stieg mit der Milchaufnahme im Vergleich zu Feten stark an. Insgesamt stimmen die Ergebnisse mit der Literatur überein, wonach die Vitamin E-Konzentration in Geweben stark durch die Aufnahme über die Nahrung beeinflusst wird. Zwischen dem Logarithmus der Vitamin E-Konzentration in der Diät und der Konzentration in Körpergeweben besteht eine direkte, lineare Beziehung (WITTING, 1972; MACHLIN, 1984), was für andere Vitamine nicht in dieser Ausprägung beobachtet werden konnte (MACHLIN, 1984).

Ein deutlicher Einfluß der Milchaufnahme zeigte sich auch bei der Niere der untersuchten Säuglinge, wo die Vitamin A-Konzentration im Verlauf der Säugeperiode stark anstieg. Dieser Anstieg läßt sich mit der gleichzeitigen Zunahme der Retinolkonzentration im Serum der Säuglinge in Einklang bringen, da das in der Niere enthaltene Vitamin A vor allem aus RBP-gebundenem Retinol des Blutes stammt (WOLF, 1984).

Auch die Vitamin E-Konzentration in der Niere der untersuchten Säuglinge war mehrfach höher als bei Feten und läßt sich wahrscheinlich, ähnlich wie bei Vitamin A, durch die hohe Vitamin E-Konzentration im Serum erklären.

Im Vergleich zu den Säuglingen zeigten die Ergebnisse der untersuchten entwöhnten Jungtiere ein völlig anderes Bild. Von den Müttern entwöhnte Kegelrobben bleiben in der Regel nach Abschluß der Säugeperiode noch einige Wochen lang ohne jegliche Nahrungsaufnahme an Land, bevor sie ins Meer gehen und beginnen, sich selbst zu ernähren. Bei entwöhnten Jungtieren fiel entsprechend die Vitamin E-Konzentration in Serum, Leber und Niere und die Vitamin A-Konzentration in der Niere im Vergleich zu Säuglingen wieder stark ab. Da die Tiere keine Milch mehr erhielten, unterstreichen diese Ergebnisse die Bedeutung, welche die Milchzufuhr für die Anreicherung von Vitamin A und Vitamin E im Organismus der Säuglinge hat. Im scheinbaren Widerspruch dazu steht die Zunahme der Gesamtspeichermenge an Vitamin A in der Leber und ein Anstieg der Vitamin E-Konzentration im Blubber entwöhnter Jungtiere, obwohl diese Tiere die Vitamine nicht mehr über die Nahrung aufnehmen konnten. Da entwöhnte Kegelrobben aber längere Zeit fasten, ist ein Abbau von Depotfett anzunehmen. Infolgedessen wird vermutlich, ähnlich wie bei laktierenden Kühen, Vitamin A aus dem Blubber freigesetzt und dabei anscheinend verstärkt von der Leber aufgenommen. Warum im Gegensatz dazu bei Säuglingen trotz der Aufnahme von Vitamin A über die Milch keine verstärkte Speicherung in der Leber erfolgte, kann durch die Ergebnisse nicht erklärt werden. Möglicherweise besteht aber ein Zusammenhang mit dem starken Wachstum vor allem des Blubbers im Säuglingsstadium, so daß Vitamin A vor allem in diesem Gewebe gespeichert wurde. Der Anstieg der Vitamin E-Konzentration im Blubber entwöhnter Jungtiere scheint, wie bei den laktierenden Kühen, durch eine im Vergleich zu Vitamin A

geringere Mobilisierung von Vitamin E und einen dadurch bedingten Konzentrierungseffekt zustande zu kommen.

Insgesamt zeigen also die Ergebnisse, daß die Aufnahme von Vitamin A und Vitamin E über die Milch große Bedeutung für den Vitaminstatus der Jungtiere und die Zunahme der Körperreserven hat. Mit der Milchaufnahme stieg die Vitamin A-Konzentration in Serum und Niere und die Vitamin E-Konzentration in Serum, Leber, Blubber und Niere der Säuglinge im Vergleich zu Feten stark an. Ähnliches wird auch bei terrestrischen Säugetieren und beim Menschen beobachtet (SCHLOTKE et al., 1978; JAGADEESAN und PREMA, 1981; BATES, 1983; DAVILA et al., 1985). Allerdings ist bei terrestrischen Säugetieren der Vitamin A- und Vitamin E-Status säugender Jungtiere vom Vitamin A- bzw. Vitamin E-Gehalt im Futter der Muttertiere abhängig, da letzteres den Vitamin A- bzw. Vitamin E-Gehalt in der Milch stark beeinflußt (TOMLINSON et al., 1974; SCHLOTKE et al., 1978; SCHINGOETHE et al., 1979; DAVILA et al., 1985). Enthält die Diät und damit auch die Milch der Muttertiere nur wenig Vitamin A bzw. Vitamin E, dann nehmen auch die bei der Geburt niedrigen Vitamin A- und Vitamin E-Konzentrationen in Serum und Speichergeweben der Säuglinge nicht oder nur wenig zu (SCHLOTKE et al., 1978; DAVILA et al., 1985). Bei den laktierenden Kegelrobben enthielt die Milch trotz völliger Futterabstinenz Vitamin A und Vitamin E in hohen Konzentrationen, was sich im Vitaminstatus der Säuglinge entsprechend widerspiegelte.

5.5 Schlußfolgerung

In der vorliegenden Arbeit konnte erstmals gezeigt werden, daß laktierende Kegelrobben Vitamin A und Vitamin E in großen Mengen in die Milch sezernieren, obwohl die Tiere während der Laktation keinerlei Nahrung aufnehmen. Dabei

werden die durchschnittlichen Vitamin A- und Vitamin E-Gehalte in der Milch terrestrischer Säugetiere und des Menschen mehrfach übertroffen (SCHLOTKE et al., 1978; JAGADEESAN und PREMA, 1981; STOWE, 1982; DAVILA et al., 1985; SCHWEIGERT et al., 1987a).

Von terrestrischen Säugetieren ist außerdem eine starke Abhängigkeit des Vitamin A- und Vitamin E-Gehaltes in der Milch von der Fütterung bekannt (TOMLINSON et al., 1974; SCHLOTKE et al., 1978; SCHINGOETHE et al., 1979; DAVILA et al., 1985). Bei Mangel an Vitamin A und Vitamin E in der Diät werden nur geringe Vitamin A- und Vitamin E-Konzentrationen in die Milch sezerniert (SCHLOTKE et al., 1978; DAVILA et al., 1985). Im Gegensatz dazu werden die hohen Vitamin A- und Vitamin E-Gehalte in der Milch laktierender Kegelrobben vollständig aus endogenen Speichern freigesetzt, was durch die vorliegenden Untersuchungen gezeigt werden konnte. Im Verlauf der Laktation kommt es zu einem starken Abbau von Depotfett und Lebergewebe, womit eine Mobilisierung großer Mengen an Vitamin A und Vitamin E einhergeht. Eine Mobilisierung größerer Mengen an Vitamin E aus dem Depotfett scheint die laktierende Kegelrobbe von anderen Spezies zu unterscheiden, die in Fastenperioden Vitamin E entweder gar nicht oder nur in geringem Umfang aus dem Depotfett freisetzen (MACHLIN et al., 1979; SCHAEFER et al., 1983).

Die Ergebnisse zeigen außerdem, daß die Aufnahme der Vitamine A und E über die Milch große Bedeutung für den Vitamin A- und Vitamin E-Status der Säuglinge hat. Während Feten und Neugeborene sehr niedrige Vitamin A- und Vitamin E-Konzentrationen in Serum, Leber, Depotfett und Niere besitzen, kommt es mit Beginn der Säugeperiode zu einer beträchtlichen Zunahme der Gesamtreserven dieser Vitamine im Organismus der Jungtiere. Eine entsprechende Zunahme der

Vitaminreserven ist bei terrestrischen Säugetieren von einer ausreichenden Versorgung der Muttertiere mit Vitamin A und Vitamin E über die Diät abhängig. Bei Mangel an Vitamin A bzw. E in der Nahrung und entsprechend geringer Sekretion in die Milch nehmen auch die niedrigen Vitamin A- und Vitamin E-Gehalte in Serum und Speichergeweben der Neugeborenen nicht oder nur wenig zu (SCHLOTKE et al., 1978; DAVILA et al., 1985).

Am Beispiel der Kegelrobbe konnte damit erstmals gezeigt werden, daß selbst bei völligem Fehlen einer exogenen Zufuhr die Vitamine A und E von laktierenden Muttertieren in großen Mengen in die Milch ausgeschieden werden und damit eine reichliche Versorgung der Säuglinge mit diesen Substanzen gewährleistet ist. Die Ursache dafür ist vermutlich im besonderen biologischen Ablauf der Laktation und Jungtierentwicklung bei dieser Spezies zu suchen. Da die Muttertiere trotz eines enormen Energiebedarfs für die Aufzucht der Jungtiere während der Laktation vollständig fasten, ist die Versorgung der schnellwachsenden Säuglinge mit Nährstoffen und Vitaminen über die Milch vollkommen von der Mobilisierung dieser Substanzen aus mütterlichen Speichern abhängig. Besondere Bedeutung gewinnt die Ausbildung endogener Vitaminspeicher der Säuglinge über die Milchaufnahme unter dem Aspekt, daß entwöhnte Jungtiere gleichfalls längere Zeit fasten und daher auf die in der Säugeperiode angelegten Vitaminreserven angewiesen sind.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden Vitamin A- und Vitamin E-Konzentrationen in Serum-, Gewebs- und Milchproben von 68 Kegelrobben (*Halichoerus grypus*) einer Population auf Sable Island (Kanada) untersucht, um Aufschlüsse über den Vitamin A- und Vitamin E-Status dieser Tiere, auch unter dem besonderen Aspekt der Laktation, zu erhalten. Dabei wurden erwachsene Bullen, laktierende und trächtige Weibchen sowie Feten, Säuglinge und entwöhnte Jungtiere bis zu einem Alter von 5 Wochen untersucht. Säuglinge waren die einzigen Tiere, denen über die Milch exogen Vitamin A und Vitamin E zugeführt wurde. Alle übrigen Tiere standen unter dem Einfluß einer längeren Fastenperiode.

Die Analyse der organischen Probenextrakte erfolgte über ein isokratisches Verfahren der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC).

Höchste Vitamin A- und Vitamin E-Konzentrationen in Geweben wurden bei erwachsenen Tieren in der Leber und zweithöchste Werte im subcutanen Fettgewebe (Blubber) gefunden. Eine Ausnahme bildeten laktierende Kühe, bei denen die Vitamin E-Konzentration im Blubber am höchsten war. In den übrigen Geweben wurden niedrigere Vitamin A- und Vitamin E-Konzentrationen nachgewiesen. Durch den hohen Anteil des Blubbers am Körpergewicht der Robben wird etwa die Hälfte der Vitamin A-Reserven des Körpers im Blubber gespeichert.

Es konnte gezeigt werden, daß laktierende Kegelrobben Vitamin A und Vitamin E in großen Mengen in die Milch sezernierten, obwohl die Tiere keinerlei Nahrung aufnahmen. Die Vitamine wurden aus endogenen Speichern freigesetzt. Unter den besonderen Stoffwechselbelastungen, denen Kegelrobben während der Laktation durch die Produktion einer

extrem fetthaltigen Milch und ein gleichzeitiges, mehrwöchiges Fasten ausgesetzt sind, kam es zu einem beträchtlichen Abbau von subcutanem Depotfett (Blubber) und einer Reduktion des Lebergewichtes. Dabei wurde eine starke Abnahme der Gesamtspeichermenge an Vitamin A und Vitamin E in der Leber und eine Mobilisierung dieser Vitamine aus dem Blubber beobachtet, in deren Folge es auch zu einem Anstieg der Retinolkonzentration im Serum laktierender Kühe im Vergleich zu Bullen und trächtigen Weibchen kam.

Feten hatten deutlich niedrigere Vitamin A- und Vitamin E-Konzentrationen in Serum, Leber, Blubber und Niere als erwachsene Tiere. Dies spricht für eine Begrenzung der diaplazentaren Übertragung von Vitamin A und Vitamin E vom Muttertier auf den Fetus.

Die Aufnahme von Vitamin A und Vitamin E über die Milch hatte dagegen einen großen Einfluß auf den Vitamin A- und Vitamin E-Status der Säuglinge und führte zu einem Anstieg der Körperreserven an diesen Vitaminen. Die Vitamin A-Konzentration in Serum und Niere der Säuglinge und die Vitamin E-Konzentration in Serum, Leber, Blubber und Niere stieg im Vergleich zu Feten deutlich an.

Laktierende Kegelrobben sezernieren Vitamin A und Vitamin E in großen Mengen in die Milch, obwohl die exogene Zufuhr dieser Substanzen fehlt. Im Gegensatz zu den für terrestrische Säugetiere bekannten Daten werden bei dieser Tierart die schnellwachsenden Säuglinge unabhängig von der Nahrungsaufnahme des Muttertieres reichlich mit Vitamin A und Vitamin E versorgt. Dies ist auch für die weitere Entwicklung der Jungtiere wichtig, da entwöhnte Jungtiere längere Zeit fasten und daher auf post partum angelegte Vitaminreserven angewiesen sind.

SUMMARY

GENERAL VITAMIN A AND VITAMIN E STATUS IN THE GREY SEAL (HALICHOERUS GRYPUS) - AND DURING LACTATION

Vitamin A and vitamin E concentrations in serum, tissues and milk were investigated in 68 grey seals (*Halichoerus grypus*) in the pupping colony on Sable Island, Canada, to determine the vitamin A and vitamin E status in general and during lactation. Adult males, lactating and pregnant females as well as fetuses, suckling pups and weaned pups up to the age of five weeks were examined. Suckling pups were the only animals with dietary uptake of vitamin A and E. All other animals were examined during periods associated with an abstinence from feeding.

The extracts of serum, tissues and milk were analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC).

Highest vitamin A and vitamin E concentrations in tissues of adults were found in liver, followed by blubber, except in lactating females, in which the highest values of vitamin E were found in blubber. Relatively low concentrations of both vitamin A and vitamin E were found in the other tissues. Due to the high percentage of blubber of the total body weight, the blubber contained approximately 50 % of the total body stores of vitamin A.

The results show, that great amounts of vitamin A and vitamin E were secreted into milk by females during lactation, although the animals were abstinent from feeding. Since lactating grey seals have to produce large amounts of milk, extremely rich in fat and energy, during periods of complete abstinence from feeding over several weeks, rapid mobilization of blubber and liver tissue was found in

lactating females. At the same time, the amounts of vitamin A and vitamin E stored in the liver were decreased considerably. Mobilization of vitamin A and vitamin E from blubber as well as increases of vitamin A concentrations in serum of lactating females were found.

In fetuses, considerably lower concentrations of both vitamin A and vitamin E were found in serum, liver, blubber and kidney compared to adults. Thus, the placental transfer of vitamin A and vitamin E from mother to fetus seems to be limited.

In contrast, the uptake of vitamin A and vitamin E from milk strongly influenced the vitamin A and vitamin E status of suckling pups and caused an increase in the total body stores of vitamin A and vitamin E in these animals. Concentrations of vitamin A in serum and kidney as well as vitamin E concentrations in serum, liver, blubber and kidney showed a marked rise during the suckling period.

In lactating grey seals, great amounts of vitamin A and vitamin E are secreted into milk although there is no dietary uptake of vitamin A and vitamin E. Thus, rapidly growing pups are well supplied with vitamin A and vitamin E independent of the maternal diet. This contrasts with known data for terrestrial mammals. The increase in total body stores seems to be especially important for weaned pups, since these animals are also abstinent from feeding for some time and, therefore, are dependent on stored vitamin supplies during this period.

LITERATURVERZEICHNIS

- ACKMAN, R.G. and M.G. CORMIER (1967)
 α -tocopherol in some Atlantic fish and shellfish with particular reference to live-holding without food.
Fish. Res. Bd. Can. **24**, 357-373.
- ADDISON, R.F. and P.F. BRODIE (1987)
Transfer of organochlorine residues from blubber through the circulating system to milk in the lactating Grey seal (*Halichoerus grypus*).
Can. J. Fish. Aquat. Sci. **44**, 782-786.
- AGUILAR, A. (1987)
Using organochlorine pollutants to discriminate marine mammal populations: a review and critique of the methods.
Mar. Mamm. Sci. **3**, 242-262.
- ANON. (1967)
American Society of Mammalogists: Standard measurements of seals.
J. Mammal. **48**, 459-462.
- BATES, C.J. (1983)
Vitamin A in pregnancy and lactation.
Proc. Nutr. Soc. **42**, 65-79.
- BATRES, R.O. and J.A. OLSON (1987)
Relative amount and ester composition of vitamin A in rat hepatocytes as a function of the method of cell preparation and of total liver stores.
J. Nutr. **117**, 77-82.
- BAYFIELD, R.F. (1975)
Simplified methods for the examination of liver lipids:
1. Determination of vitamin A in liver using a direct solvent extraction technique.
Anal. Biochem. **64**, 403-413.
- BEHRENS, W.A., PH.D., J.N. THOMPSON, PH.D. and R. MADERE, L.T. (1982)
Distribution of α -tocopherol in human plasma lipoproteins.
Am. J. Clin. Nutr. **35**, 691-696
- BEYNEN, A.C., R.J.J. HERMUS and J.G.A.J. HAUTVAST (1980)
A mathematical relationship between the fatty acid composition of the diet and that of the adipose tissue in man.
Am. J. Clin. Nutr. **33**, 81-85.

- BHAT, P.V. and A. LACROIX (1983)
Separation and estimation of retinyl fatty acyl esters in tissues of normal rat by high-performance liquid chromatography.
J. Chrom. **272**, 269-278.
- BIERI, J.G. and R. POUKKA EVARTS (1975)
Tocopherols and polyunsaturated fatty acids in human tissues.
Am. J. Clin. Nutr. **28**, 717-720.
- BIRT, D.F. (1986)
Update on the effects of vitamins A, C, and E and selenium on carcinogenesis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **183**, 311-320.
- BLOMHOFF, R., K.T. NORUM and T. BERG (1985)
Hepatic uptake of [³H]retinol bound to the serum retinol binding protein involves both parenchymal and perisinusoidal stellate cells.
J. Biol. Chem. **260**, 13571-13575.
- BONESS, D.J. and H. JAMES (1979)
Reproductive behaviour of the Grey seal (*Halichoerus grypus*) on Sable Island, Nova Scotia.
J. Zool. Lond. **188**, 477-500.
- BONNER, W.N. (1981)
Grey seal *Halichoerus grypus* Fabricius, 1791. In: Handbook of marine mammals. Ridgway, S.H. and R.J. Harrison (eds), Academic Press, London, pp. 111-144.
- BRODIE, P. and B. BECK (1983)
Predation by sharks on the grey seal (*Halichoerus grypus*) in Eastern Canada.
Can. J. Fish. Aquat. Sci. **40**, 267-271.
- CARAVAGGI, C. (1969)
Vitamin E concentrations in the serum of various experimental animals.
Comp. Biochem. Physiol. **30**, 585-588.
- CHYTIL, F. and D.E. ONG (1979)
Cellular retinol- and retinoic acid-binding proteins in vitamin A action.
Fed. Proc. **38**, 2510-2514.
- COSTA, D.P., P.J. LE BOEUF, A.C. HUNTLEY and C.L. ORTIZ (1986)
The energetics of lactation in the Northern elephant seal, *Mirounga angustirostris*.
J. Zool. Lond. **209**, 21-33.

- DAVILA, M.E., L. NORRIS, M.P. CLEARY and A.C. ROSS (1985)
Vitamin A during lactation: relationship of maternal diet to milk vitamin A content and to the vitamin A status of lactating rats and their pups.
J. Nutr. **115**, 1033-1041.
- DE LEENHEER, A.P., V.O.R.C. DE BEVERE, M.G.M. DE RUYTER and G.M. CLAEYS (1979)
Simultaneous determination of retinol and α -tocopherol in human serum by high-performance liquid chromatography.
J. Chrom. **162**, 408-413.
- DE LUCA, L.M. (1978)
Vitamin A. In: Handbook of lipid research 2: The fat-soluble vitamins.
De Luca, H.F. (ed),
Plenum Press, New York, pp. 1-67.
- DJU, M.Y., K.E. MASON and L.J. FILER, J.R. (1958)
Vitamin E (tocopherol) in human tissues from birth to old age.
Am. J. Clin. Nutr. **6**, 5060.
- DONOGHUE, S., D.W. RICHARDSON, D. SKLAN and D.S. KRONFELD (1982)
Placental transport of retinol in sheep.
J. Nutr. **112**, 2197-2203.
- ELMOTY, I.A. and A.A. EL-MALLA (1967)
Effect of pregnancy and lactation on the vitamin-A plasma and colostrum level in buffalos.
Acta Vet. Acad. Sci. Hung. Tomus **17**, 143-146.
- ENGELHARDT, F.R. (1977)
Plasma and tissue levels of dietary radiotocopherols in the harp seal, *Phoca groenlandica*.
Can. J. Physiol. Pharmacol. **55**, 601-608.
- ENGELHARDT, F.R. and J.R. GERACI (1978)
Effects of experimental vitamin E deprivation in the harp seal, *Phoca groenlandica*.
Can. J. Zool. **56**, 2186-2193.
- ENGELHARDT, F.R., J.R. GERACI and B.L. WALKER (1975a)
Tocopherol composition of frozen atlantic herring (*Clupea harengus harengus*) tissues and oils.
J. Fish. Res. Bd. Can. **32**, 807-809.
- ENGELHARDT, F.R., J.R. GERACI and B.L. WALKER (1975b)
Tocopherol distribution in the harp seal, *Pagophilus groenlandicus*.
Comp. Biochem. Physiol. **52**, 561-562.

- FEDAK, M.A. and S.S. ANDERSON (1982)
The energetics of lactation: accurate measurements from a large wild mammal, the Grey seal (*Halichoerus grypus*).
J. Zool. **198**, 473-479.
- FROLIK, C.A. and J.A. OLSON (1984)
Extraction, separation, and chemical analysis of retinoids.
In: The retinoids. Vol. 1.
Sporn, M.B., A.B. Roberts and D.S. Goodman (eds.)
Academ. Press, Inc., Orlando, pp. 181-233
- FURR, H.C., O. AMEDEE-MANESME and J.A. OLSON (1984)
Gradient reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of naturally occurring retinoids.
J. Chrom. **309**, 299-307.
- FURR, H.C., D.A. COOPER and J.A. OLSON (1986)
Separation of retinyl esters by non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography.
J. Chrom. **378**, 45-53.
- FUTTERMAN, S. and J.S. ANDREWS (1964)
The composition of liver vitamin A ester and the synthesis of vitamin A ester by liver microsomes.
J. Biol. Chem. **239**, 4077-4080.
- GERACI, J.R. (1981)
Dietary disorders in marine mammals: synthesis and new findings.
JAVMA **179**, 1183-1191.
- GOODMAN, D.S. (1984)
Overview of current knowledge of metabolism of vitamin A and carotenoids.
JNCI **73**, 1375-1379.
- GOODMAN, D.S. and W.S. BLANER (1984)
Biosynthesis, absorption, and hepatic metabolism of retinol.
In: The retinoids. Vol. 2.
Sporn, M.B., A.B. Roberts and D.S. Goodman (eds.)
Academic press, Inc., Orlando, pp. 1-39
- GREGORY, M.E., S.K. KON, S.J. ROWLAND and S.Y. THOMPSON (1955)
The composition of the milk of the blue whale.
J. Dairy Res. **22**, 108-112.
- HALLERMAYER, R. (1976)
Eine Schnellmethode zur Bestimmung des Fettgehaltes in Lebensmitteln. I. Mitteilung: Die Bestimmung in Fleischwaren.
Deutsche Leb. Rundsch. **10**, 356-359.

- HENDRIKS, H.F.J., A.A.W. VERHOOFSTAD, A. BROUWER, A.M. DE LEEUW and D.L. KNOOK (1985)
Perisinusoidal fat-storing cells are the main vitamin A storage sites in rat liver.
Exp. Cell Res. **160**, 138-149.
- HUSSEIN, L., A. DRAR, H. ALLAM and B.E. NAGGAR (1987)
Lipid and retinol contents in the milk of Egyptian mothers with normal and sick infants.
Int. J. Vit. Neutr. Res. **57**, 3-11.
- IMAICHI, K., S. COX, L.W. KINSELL, M. SCHELSTRAETE and H.S. OLCOTT (1965)
Tocopherol content of human adipose tissue.
Am. J. clin. Nutr. **16**, 347-350.
- ISLER, O., und G. BRUBACHER (1982a)
Vitamin A. In: Vitamine I. Fettlösliche Vitamine.
Isler, O. und G. Brubacher (eds.)
Georg Thieme Verlag Stuttgart, pp. 29-89
- ISLER, O., und G. BRUBACHER (1982b)
Die E-Vitamine. In: Vitamine I. Fettlösliche Vitamine.
Isler, O. und G. Brubacher (eds.)
Georg Thieme Verlag Stuttgart, pp. 126-151
- ISMADI, S.D. and J.A. OLSON (1975)
Vitamin A transport in human fetal blood.
Am. J. Clin. Nutr. **28**, 967-972.
- JAGADEESAN, V. and K. PREMA (1981)
Lactation and vitamin E status: relationship between plasma and milk levels at different lactational periods.
Nutr. Rep. Int. **23**, 135-141.
- JANGAARD, P.M. and P.J. KE (1968)
Principal fatty acids of depot fat and milk lipids from Harp seal (*Pagophilus groenlandica*) and Hooded seal (*Cystophora cristata*).
J. Fish. Res. Bd. Can. **25**, 2419-2426.
- JOHNSTON, L.A. and P.W. CHEW (1984)
Peripartum Changes of plasma and milk vitamin A and β -carotene among dairy cows with or without mastitis.
J. Dairy Sci. **67**, 1832-1840.
- KAYDEN, H.J. (1983)
Tocopherol content of adipose tissue from vitamin E-deficient humans. In: Biology of Vitamin E.
Pitman Books, London, pp. 70-91.
- KING, J.E. (1983)
Seals of the world.
King, J.E. (ed.)
Cornell University press, New York

- KRISHNAMURTHY, S. and J.G. BIERI (1963)
The absorption, storage, and metabolism of
 α -tocopherol-C14 in the rat and chicken.
J. Lip. Res. **4**, 330-360.
- KÜBLER, W. und H. LORENZ (1963)
Vitamin-A-Ester, freies Vitamin A und Carotinoide im
Blutserum gesunder Erwachsener.
Int. J. Vit. Res. **33**, 411-434.
- LAMMI-KEEFE, C.J. and R.G. JENSEN (1984)
Fat-soluble vitamins in human milk.
Nutr. Rev. **42**, 365-371.
- LEWIS, R.W. and J.W. LENTFER (1967)
The vitamin A content of polar bear liver: range and
variability.
Comp. Biochem. Physiol. **22**, 923-926.
- LOCKYER, C.H., L.C. M.C. CONNELL and T.D. WATERS (1984)
The biochemical composition of fin whale blubber.
Can. J. Zool. **62**, 2553-2562.
- MACHLIN, L.J., J. KEATING, J. NELSON, M. BRIN, R. FILIPSKI
and O.N. MILLER (1979)
Availability of adipose tissue tocopherol in the guinea
pig.
J. Nutr. **109**, 105-109.
- MACHLIN, L.J. (1984)
Vitamin E. In: Handbook of vitamins, Machlin, L.J.
(ed.),
Marcel Dekker Inc., New York, pp. 99-145
- MANSFIELD, A.W. (1966)
The grey seal in Eastern Canadian waters.
Can. Audubon Mag. **28**, 161-166.
- MANSFIELD A.W. (1977)
Growth and longevity of the grey seal *Halichoerus
grypus* in Eastern Canada
ICES, N:6
- MANSFIELD, A.W. (1978)
Reproduction of the grey seal *Halichoerus grypus* in
Eastern Canada.
ICES, N:13
- MANSFIELD, A.W. and B. BECK (1977)
The grey seal in Eastern Canada.
Fish. and Mar. Serv. Tech. Rep. **704**, 1-51.
- MELLORS, A. and M.C.C. BARNES (1966)
The distribution and metabolism of α -tocopherol in the
rat.
Br. J. Nutr. **20**, 69-77.

- MILLER, K.W. and C.S. YANG (1985)
An isocratic high-performance liquid chromatography method for the simultaneous analysis of plasma retinol, α -tocopherol, and various carotenoids.
Analyt. Biochem. **145**, 21-26.
- MINO, M. and M. NAGAMATU (1986)
An evaluation of nutritional status of vitamin E in pregnant women with respect to red blood cell tocopherol level.
Int. J. Vit. Nutr. Res. **56**, 149-153.
- MITCHELL G.E., JR, P.V. RATTRAY and J.B. HUTTON (1975)
Vitamin A alcohol and vitamin A palmitate transfer from ewes to lambs.
Int. J. Vit. Nutr. Res. **45**, 1975
- MONTREEWASUWAT, N. and J.A. OLSON (1979)
Serum and liver concentrations of vitamin A in Thai fetuses as a function of gestational age.
Am. J. Clin. Nutr. **32**, 601-606.
- MOORE, T., I.M. SHARMAN and P.P. SCOTT (1963)
Vitamin A in the kidney of the cat.
Res. vet. Sci. **4**, 397-407.
- NAPOLI, L.J., A.M. Mc CORMICK, B. O'MEARA and E.A. DRATZ (1984)
Vitamin A metabolism: α -tocopherol modulates tissue retinol levels in vivo, and retinyl palmitate hydrolysis in vitro.
Arch. Biochem. Biophys. **230**, 194-202.
- NELSON, R.A. (1985)
Dietary habits of the polar bear and their significance for vitamin A nutrition in captivity.
Am. Asso. Zoo Veterinarians, Scottsdale, AR, Oct. 6-10
- OLSON, J.A. (1979)
A simple dual assay for vitamin A and carotenoids in human liver.
Nutr. Rep. Int. **19**, 807-813.
- PARVIAINEN, M.T. and T. KOSKINEN (1983)
Vitamin A, D and E status in a finnish population - a multivitamin study.
Am. J. Clin. Nutr. **37C**, 397-403.
- PAWSON, B.A. (1982)
History of retinoids.
J. Am. Acad. Dermatol. **6**, 577-582.

- PLAKKE, T., J. BARKEL, A.C. BEYNEN, R.J.J. HERMUS and M.B. KATAN (1983)
Relationship between the fatty acid composition of the diet and that of subcutaneous adipose tissue in individual human subjects.
Hum. Nutr. Appl. Nutr. **37A**, 365-372.
- RADFORD, P.J., C.F. SUMMERS and K.M. YOUNG (1978)
A statistical procedure for estimating grey seal pup production from a single census.
Mammal Rev. **8**, 35-42.
- RADIN, N.S. (1981)
Extraction of tissue lipids with a solvent of low toxicity.
Meth. Enzymol. **72**, 5-7.
- RAICA N., J.r., J. Scott, L. LOWRY and H. E. SAUBERLICH (1972)
Vitamin A concentration in human tissues collected from five areas in the United States.
Am. J. Clin. Nutr. **25**, 291-196.
- RAJARAM, O.V., P. FATTERPAKER and A. SREENIVASAN (1974)
Involvement of binding lipoproteins in the absorption and transport of α -tocopherol in the rat.
Biochem. J. **140**, 509-516.
- RASMUSSEN, M., R. BLOMHOFF, P. HELGERUD, L.A. SOLBERG, T. BERG and K.R. -NORUM (1985)
Retinol and retinyl esters in parenchymal and nonparenchymal rat liver cell fractions after long-term administration of ethanol.
J. Lip. Res. **26**, 1112-1119.
- RODAHL, K. and A.W. DAVIES (1949)
Vitamin A in seals.
Biochem. J. **45**, 408-412.
- RODAHL, K. and T. MOORE (1943)
Vitamin A content and toxicity of bear and seal liver.
Biochem. J. **37**, 166-168.
- ROSS, A.C. (1981)
Separation of long-chain fatty acid esters of retinol by high-performance liquid chromatography.
Anal. Biochem. **115**, 324-330.
- RÜEDI, D., J. VÖLLM, A. HELDSTAB und P. KELLER (1979)
Vitamin- und Enzymbestimmungen im Rahmen klinischer Diagnostik: ausgewählte Beispiele.
11. Int. Symp. über Erkrankungen d. Zootiere, Mühlhausen, 21-29.

- SACHS, L. (1978)
Angewandte Statistik.
Springer-Verlag, Berlin.
- SCHAEFER, E.J., R. WOO, M. KIBATA, L. BJORNSEN and P.H. SCHREIBMAN (1983)
Mobilization of triglyceride but not cholesterol or tocopherol from human adipocytes during weight reduction.
Am. J. Clin. Nutr. **37**, 749-754.
- SCHINGOETHE, D.J., J.G. PARSONS, F.C. LUDENS, L.V. SCHAFFER and H.J. SHAVE (1979)
Response of lactating cows to 300 mg of supplemental vitamin E daily.
J. Dairy Sci. **62**, 333-338.
- SCHLOTKE, B., L. BUSCH und F. KOCH (1978)
Untersuchungen zum Einfluß Vitamin-E-arer Ernährung bei Sauen während der Gravidität auf den Vitamin-E-Status der Ferkel in der Neugeborenenphase.
Zbl. Vet. Med. A. **25**, 474-484.
- SCHWEIGERT F.J., W.A. RAMBECK and H. ZUCKER (1987a)
Transport of β -carotene by the serum lipoproteins in cattle.
J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr. **57**, 162-167
- SCHWEIGERT, F.J., W.T. STOBO and H. ZUCKER (1987b)
Vitamin A status in the grey seal (*Haliochoerus grypus*) on Sable Island.
Int. J. Vit. Nutr. Res. **57**, 239-245
- SHAUGHNESSY, P.D. (1981)
Geographical variation in the vitamin A content of livers of adult male cape fur seals *Arctocephalus pusillus*, 1941-1949.
Fish. Bull. S. Afr. **14**, 123-129.
- SHUKLA, R.R., V. KUMAR, R. BANERJEE and U.K. MISRA (1986)
Placental transfer and fetal distribution of 3H-retinoic acid in rats.
Int. J. Vit. Nutr. Res. **56**, 29-33.
- SMITH, F.R. and D.S. GOODMAN (1976)
Vitamin A transport in human vitamin A toxicity.
N. Engl. J. Med. **294**, 805-808.
- SMITH, J.E. and D.S. GOODMAN (1979)
Retinol-binding protein and the regulation of vitamin A transport.
Fed. Proc. **38**, 2504-2509.

- SOUTHCOTT, R.V., N.J. CHESTERFIELD and R.M. WARNEKE (1974)
The vitamin A content of the liver of the Australian
fur seal, *Arctocephalus pusillus doriferus*.
Aust. Wildl. Res. **1**, 145-148.
- STEWART, R.E.A. and D.M. LAVIGNE (1984)
Energy transfer and female condition in nursing harp
seals *Phoca groenlandica*.
Hol. Ecol. **7**, 182-194.
- STOWE, H.D. (1982)
Vitamin A profiles of equine serum and milk.
J. Anim. Sci. **54**, 76-81.
- TAKAHASHI, Y.U., J.E. SMITH and D.S. GOODMAN (1977)
Vitamin A and retinol-binding protein metabolism during
fetal development in the rat.
Am. J. Physiol. **233** (4), E263-E272.
- THOMAS, M.R., M.H. PEARSONS, M. DEMKOWICZ, I.M. CHAN and
C.G. LEWIS (1981)
Vitamin A and Vitamin E concentration of the milk from
mothers of pre-term infants and milk of mothers of
full-term infants.
Acta Vitaminol. Enzymol. **3**, 135-144.
- TOMASSI, G. and J.A. OLSON (1983)
Effect of dietary essential fatty acids on vitamin A
utilization in the rat.
J. Nutr. **113**, 697-703.
- TOMLINSON, J.E., G.E. MITCHELL, J.R., N.W. BRADLEY, R.E.
TUCKER, BOLING J.A. and SCHELLING G.T. (1974)
Transfer of vitamin A from bovine liver to milk.
J. Anim. Sci. **39**, 813-817.
- TOMLINSON, J.E., R.W. HEMKEN, G.E. MITCHELL, J.R. and R.E.
TUCKER (1976)
Mammary transfer of vitamin A alcohol and ester in
lactating dairy cows.
J. Dairy Sci. **59**, 607-613.
- TYÖPPÖNEN, J., J. HAKKARAINEN, T. JUOKSLAHTI and P. LINDBERG
(1984)
Vitamin E requirement of mink with special reference to
tocopherol composition in plasma, liver, and adipose
tissue.
Am. J. Vet. Res. **45**, 1790-1794.
- VAHLQUIST, A. and S. NILSSON (1979)
Mechanisms for vitamin A transfer from blood to milk in
Rhesus monkeys.
J. Nutr. **109**, 1456-1463.

- VAHLQUIST, A. and S. NILSSON (1984)
Vitamin A transfer to the fetus and to the amniotic fluid in Rhesus monkeys (*Macaca mulatta*).
Ann. Nutr. Metab. **28**, 321-333.
- VUILLEUMIER, J.P., H.E. KELLER, D. GYSEL and F. HUNZIKER (1983)
Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part I: The fat-soluble vitamins A and E, and β -carotene.
Int. J. Vit. Nutr. Res. **53**, 265-272.
- WAGNER, K.-H. (1939)
Vitamin A und β -Carotin des Finn-, Blau- und Spermwals
Johann Ambrosius Barth, Leipzig.
- WALD, G. (1968)
Molecular basis of visual excitation.
Science **162**, 230-239.
- WALDORF, A. and N.A. VEDROS (1979)
Fatty acid content of depot fat in the Northern fur seal (*Callorhinus ursinus*).
Wildl. Dis. **15**, 573-577.
- WEBER, F. (1983)
Biochemical mechanisms of vitamin A action.
Proc. Nutr. Soc. **42**, 31-41.
- WILLIAMS, G. and G. LEWIS (1982)
Vitamin A in dolphin nutrition.
J. sci. food agr. **33**, 1253-1254.
- WITTING, L.A. (1972)
The role of polyunsaturated fatty acids in determining vitamin E requirement.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **203**, 193-199.
- WOLF, G. (1984)
Multiple functions of vitamin A.
Phys. Rev. **64**, 873-937.
- YANG N.Y.J. and J.D. DESAI (1977)
Effect of high levels of dietary vitamin E on liver and plasma lipids and fat soluble vitamins in rats.
J. Nutr. **107**, 1418-1426
- YASUNAGA, T., H. KATO, K. OHGAKI, T. INAMOTO and Y. HIKASA (1982)
Effect of vitamin E as an immunopotential agent for mice at optimal dosage and its toxicity at high dosage.
J. Nutr. **112**, 1075-1084.
- ZACHMAN, R.D., B. KAKKAD and F. CHYTIL (1984)
Perinatal rat lung retinol (vitamin A) and retinyl palmitate.
Ped. Res. **18**, 1297-1299.

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. H. Zucker danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, die freundlich gewährte Unterstützung und die großzügige Arbeitsmöglichkeit im Vitaminlabor.

Bei Herrn Dr. F. J. Schweigert möchte ich mich für die jederzeit gewährte, freundliche Unterstützung und zahlreiche theoretische Anregungen besonders herzlich bedanken. Außerdem danke ich ihm für die Überlassung sämtlicher Proben, die von ihm während einer Expedition im Januar 1987 auf Sable Island (Kanada) unter großem Arbeitsaufwand gesammelt wurden. In diesem Zusammenhang danke ich auch den Mitarbeitern des Bedford Institute of Oceanography, Dartmouth, Canada, für die Unterstützung in der Probengewinnung.

Außerdem danke ich Herrn Dr. Dr. habil. W. A. Rambeck, der stets als Ansprechpartner zur Verfügung stand.

Besonders herzlich danken möchte ich meinem Kollegen Markus Wierich für die Einführung in die Methode der HPLC.

Mein Dank gilt außerdem Frau Antje Wetzels für die freundliche Unterstützung bei der technischen Durchführung der Versuche und allen anderen Mitarbeitern des Labors für die gute Arbeitsatmosphäre.

Den Herren Dr. U. Manz und Dr. W. Schüep von der Fa. Hoffmann-La Roche, Basel, danke ich für die Überlassung der Retinylester-Standards und für die freundliche Beratung.

Ein Teil der Untersuchungen wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft durch eine Sachbeihilfe unterstützt.

LEBENS LAUF

Martina Gabriele Luppertz	geb. am 10. Juni 1962 in Memmingen
Eltern	Werner Luppertz, Immobilien- kaufmann, und Hannelore Luppertz, geb. Knell, Fremd- sprachensekretärin
Schulbildung	1968 - 72 Grundschule Memmingen 1972 - 81 Vöhlin-Gymnasium Memmingen
Abitur	26. Juni 1981
Studium	1981 - 86 an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians- Universität München
Staatsexamen	26. November 1986
Approbation	2. Januar 1987
Berufstätigkeit	März bis August 1987 wissenschaft- liche Hilfskraft am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tier- ärztlichen Fakultät München

